

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

ANNÉE 1933

THÈSE

N° 7

POUR LE
DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1933

PAR

SOLEYMAN DEYHIMI

Né le 25 Août 1909, à Téhéran (Perse)

Étude de la Spécificité des Protéides du Sérum sanguin et du Lait

JURY { *Président* : BINET, Professeur à la Faculté de Médecine
 { *Assesseurs* : NICOLAS { Professeurs à l'Ecole Nationale
 PANISSET { Vétérinaire d'Alfort

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1933

**Étude de la Spécificité des Protéides
du Sérum sanguin et du Lait**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

ANNÉE 1933

THÈSE

N° 7

POUR LE
DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1933

PAR

SOLEYMAN DEYHIMI

Né le 25 Août 1909, à Téhéran (Perse)

Étude de la Spécificité des Protéides du Sérum sanguin et du Lait

JURY } *Président* : BINET, Professeur à la Faculté de Médecine
 } *Assesseurs* : { NICOLAS { Professeurs à l'Ecole Nationale
 PANISSET { Vétérinaire d'Alfort



PARIS
VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS
23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1933

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Directeurs honoraires : MM. P.-J. CADIOT et H. VALLÉE

Directeur : M. E. NICOLAS

Professeurs honoraires : MM. G. BARRIER, Inspecteur général
honoraire des Ecoles Vétérinaires ; P.-J. CADIOT, H. VALLÉE.

PROFESSEURS ET CHARGÉS DE COURS

	MM.
Anatomie descriptive des animaux domestiques..	BRESSOU.
Physiologie, thérapeutique générale.....	MAIGNON.
Physique et Chimie médicales, toxicologie, phar- macie	NICOLAS.
Parasitologie et maladies parasitaires, clinique ; Zoologie.....	HENRY.
Pathologie médicale des équidés et des carnas- siers, clinique ; sémiologie et propédeutique, jurisprudence.	ROBIN.
Pathologie chirurgicale des équidés et des car- nassiers, clinique ; anatomie chirurgicale, médecine opératoire et ferrure	COQUOT.
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire, clinique ; médecine opératoire, obstétrique	LESBOUYRIES.
Pathologie générale et microbiologie, maladies microbiennes et police sanitaire, clinique....	PANISSET.
Histologie et embryologie ; anatomie patholo- gique générale ; autopsies.....	PETIT.
Zootchnie et économie rurale	DECHAMBRE.
Agronomie, botanique et hygiène ; matière médicale.	DECHAMBRE et HENRY.
Industrie et contrôle des produits d'origine ani- male.	VERGE.

PROFESSEUR AGRÉGÉ

M. LESBOUYRIES.

CHEF DE TRAVAUX AGRÉGÉ

M. SIMONNET.

CHEFS DE TRAVAUX

MM. MONVOISIN, MOUSSU (R.), GORET, VALADE, BRION, BERTHELON.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les
opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées,
doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et
qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.



A LA MEMOIRE DE MA MERE ET DE MON PERE

A MES SOEURS ET A MES FRERES

A SA MAJESTE IMPERIALE REZA CHAH PAHLEVI
le pacificateur et l'organisateur de la Perse

A MONSIEUR LE COLONEL RIAZI

Attaché militaire de Perse à Paris,
Chef de la mission militaire persane en France.

Qu'il trouve ici l'expression de notre vive gratitude pour la bienveillante sympathie qu'il nous a toujours témoignée au cours de notre séjour en France.

A MONSIEUR MAURICE PIETTRE
directeur du Laboratoire Central des Halles

Qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire et nous a donné d'excellents conseils.

A MESSIEURS CARRE ET RINJARD
du Laboratoire de Recherches du Ministère d'Agriculture.

Qui nous ont si aimablement ouvert leur laboratoire.

A TOUS MES MAITRES
DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT

A MES INSTRUCTEURS
DE L'ECOLE DE CAVALERIE DE SAUMUR

A TOUS MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BINET

*Nous le remercions de l'honneur qu'il nous
fit en acceptant la présidence de cette thèse.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR NICOLAS

*Il nous a inspiré le sujet de notre thèse et
c'est à son dévouement que nous devons
de l'avoir menée à bien. Qu'il trouve ici un
modeste, mais sincère témoignage de recon-
naissance pour l'extrême bienveillance qu'il
a manifestée à notre égard, et les conseils
éclairés qu'il n'a cessé de nous prodiguer,
pendant et après notre scolarité.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PANISSET

*Nous le remercions d'avoir bien voulu accepter
de faire partie de notre jury de thèse.*

AVANT-PROPOS

Arrivé au terme de nos études, nous considérons comme un devoir impérieux d'adresser notre vif témoignage de sympathie à la France pour l'accueil cordial que nous y avons reçu.

Nous ne savons comment nous acquitter de la dette de reconnaissance que nous avons contractée vis-à-vis de notre éminent Maître, le Professeur E. NICOLAS. Non seulement, il nous a fait le grand honneur de nous accueillir dans son laboratoire, mais il ne nous a ménagé ni son temps, ni ses conseils éclairés et nous a guidé avec une bienveillante autorité dans notre travail. Nous tenons également à remercier ici M. PIETTRE qui nous a permis de travailler dans son Laboratoire et nous a prodigué maintes fois ses judicieux conseils.

Malgré le petit bagage scientifique acquis pendant nos quelques années d'études en France, ce n'est pas sans quelque appréhension que nous avons conçu l'élaboration de notre thèse.

D'abord, il nous est encore assez difficile d'exprimer clairement et correctement les idées mêmes que nous concevons parfaitement. En outre, rappelé prématurément dans notre pays, nous n'avons pu poursuivre complètement les expériences qu'aurait réclamées notre travail, d'autant plus que nous avons entrepris l'étude d'une des questions les plus complexes et les plus obscures de la biologie : « La spécificité des protéines du sang et du lait ».

La modeste contribution que nous y apportons n'est, en somme, qu'une esquisse incomplète. Nous espérons que les circonstances nous permettront de poursuivre et d'approfondir l'étude de ce problème.

DE LA COMPLEXITÉ DES PROTÉINES

PRINCIPALES MÉTHODES D'ÉTUDE

Si, depuis quelque temps, d'étonnants progrès ont été réalisés dans la connaissance de la constitution intime des matières minérales, puisqu'on a si bien éclairé la constitution de la matière et que les physiciens ont pu pénétrer jusqu'à l'atome avec son noyau central et ses électrons périphériques, en nombre fixe pour chaque corps et égal au numéro d'ordre occupé par lui dans la classification périodique, l'étude des principes organiques quaternaires est restée dans l'obscurité. Cela ne surprend pas si l'on envisage la complexité de leur constitution, bien plus délicate et plus difficile à pénétrer que celle des matières minérales.

Leur faible coefficient de diffusibilité (Loi de Graham) peut déjà montrer la grandeur de leur poids moléculaire. On sait, par exemple, que dans la caséine, le soufre entre dans la proportion de 0,8 %. Etant donné que la molécule doit contenir au moins un atome de soufre, on aura comme poids moléculaire

$$\text{laire minimum} = n \frac{32 \times 100}{0,8} = n \times 4000.$$

- On comprend aisément la difficulté d'analyse de ces matières en sachant que le déplacement d'un seul atome d'hydrogène fait varier complètement la nature du corps. Comment pourrait-on donc les étudier ?

On en est encore aux méthodes de l'hydrolyse par les acides de BRACONNOT (1810). La méthode d'hydrolyse de SCHUTZENBERGER par la baryte en vase clos ne fait qu'une dégradation plus poussée des constituants puisqu'elle arrive jusqu'à la production d' NH^3 et nous éloigne de plus en plus de la connais-

sance de leur construction primitive. L'hydrolyse fractionnée, suivie par ABDERHALDEN et ses élèves, ne nous renseigne pas non plus sur le mode de liaison des polypeptides de dislocation.

Comment ces méthodes pourraient-elles rendre un compte exact de la constitution de ces matières ? surtout qu'environ 30 % des constituants échappent à l'analyse. PIETTRE montre que l'hydrolyse par les alcalis caustiques produit une dislocation moléculaire différente ; pour un principe organique donné, il obtient des acides aminés différents en qualité et quantité de ceux obtenus par les acides. Enfin, par ces méthodes, on ne peut tenir compte de l'eau de constitution dont l'importance ne peut guère être discutée. Si, à la rigueur, on peut montrer qu'une solution contient des protéines ou plutôt trouver leurs produits de clivage, il serait impossible d'établir que les molécules dissoutes sont celles de telle ou telle protéine, intacte dans sa structure intime.

Or, ABDERHALDEN lui-même a calculé que 20 acides aminés peuvent, théoriquement, former 2.432.902.176.640.000 composés différents par la seule variation de combinaisons et sans préjuger des produits innombrables de variation de proportion des éléments combinés.

En un mot, les méthodes chimiques n'ont réussi et ne peuvent réussir à éclairer complètement la constitution des matières protéiques : leur brutalité contraste bien avec la fragilité des molécules protéiques.

Les récentes recherches physiques et physico-chimiques ont été plus fertiles, car elles se sont adressées aux molécules intactes et non pas aux produits de désintégration. Elles ont déjà dévoilé bien des horizons brumeux et nous ont donné des repères d'une grande valeur, qui nous guident dans des terrains moins arides par des chemins plus sûrs. Elles ont permis des hypothèses ingénieuses ; elles ont détruit les hypothèses des micelles de NOEGELI et la formule d'adsorption de FREUNDLICH.

LOEB a montré la combinaison des molécules protéiques avec les acides et alcalis (loi des proportions définies de la chimie classique).

Les travaux de LECOMTE DU NOUY sur l'étude des fonctions en partant des mesures de la tension superficielle, de la viscosité et du pouvoir rotatoire ont permis d'affirmer des réalités plus précises. Cet auteur a pu mesurer les dimensions et le poids moléculaire des protéines : Albumine : longueur $4,41 \times 10^{-7}$, largeur $3,25 \times 10^{-7}$, P. M. 36.600 — Globuline : longueur $4,32 \times 10^{-7}$, largeur $3,18 \times 10^{-7}$, P. M. 35.000.

En supposant la molécule protéique un polyèdre formé de la condensation d'une multitude de réseaux de chaînettes longues et cycliques, il démontre que la coagulation n'est autre chose que la fixation de l'eau sur les chaînettes internes, d'où le gonflement des molécules.

Les physiiciens, eux aussi, n'ont fait que l'étude des principes généraux communs à tous les protéides, puisqu'ils s'adressent, chaque fois, à des complexes formés d'un ensemble protéique, tel le sérum sanguin, ou les humeurs. Mais ils n'ont pu indiquer le rôle dévolu à chacun des éléments.

Les méthodes de purification ne sont que relatives et c'est assez rare qu'on puisse arriver à avoir un principe protéique qu'on puisse prétendre complètement pur. Les points isoélectriques déterminés jusqu'à ce jour sont en grande partie dus à des impuretés salines. Ce serait donc une chimère d'essayer d'établir les caractères différentiels des protéides par de simples moyens physico-chimiques ; même les plus perfectionnés de nos laboratoires demeurent impuissants.

Nous avons donc été conduit à recourir à un laboratoire supérieur à tout ce que la pensée humaine peut imaginer et à l'abri de nos errements : grâce aux réactions antigènes-anticorps de l'organisme animal, on peut affirmer que la solution du grand problème que nous étudierons ne peut être

donnée que par la biologie. OBERMAYER et PICK et LANDSTEINER nous ont ouvert la voie.

Les réactions d'immunité furent d'abord étudiées pour résoudre les problèmes de traitement et de prophylaxie des maladies ; elles furent surtout étudiées comme réactions des complexes : microorganismes, d'une part ; sang, cellule, humeur, de l'autre. Peu à peu, on a reconnu que leurs enseignements, dépassant largement le champ de la pathologie, s'étendaient à tout le domaine de la biologie. L'aide précieuse qu'elles pouvaient apporter à la chimie elle-même est restée longtemps inaperçue et insuffisamment appréciée.

Chacun croit saisir des principes, mais, en somme, les résultats ne sont expliqués que par des hypothèses, plus ou moins vraisemblables ; car, quoiqu'on soit parti des produits formés du mélange de ces complexes divers (sérum ou lait), on est arrivé à des résultats encourageants ; malheureusement, nous ne savons à quelle matière attribuer nos résultats et comment donner à chacun le rôle qu'il mérite.

Aujourd'hui, les réactions d'immunité sont nos outils les plus précieux et les plus efficaces pour pénétrer à travers les forêts quasi-vierges de la chimie des colloïdes et de la biologie en général. Nous savons peu de chose du mécanisme de ces réactions : nous suivons leur marche, les yeux fermés, dans une atmosphère où tout échappe à nos sens.

Ces réactions ont déjà acquis une valeur pratique dans l'étude de nombreux problèmes de chimie : elles nous permettent de déceler la présence de quantités infinitésimales de protéines dissimulées dans les mélanges d'une complexité invraisemblable et de déterminer divers côtés de ces problèmes avec une précision que ne peut indiquer aucune méthode chimique connue : 5×10^{-8} grs d'albumine d'œuf suffit pour sensibiliser un lapin au choc anaphylactique et la force de la réaction de fixation du complément indique des valeurs analogues. Tout récemment, dans le même ordre d'idées, MAR-

RIX a obtenu, sur le cobaye, des résultats paradoxaux par des dilutions extrêmes, 10^{-24} , de toxine diphtérique.

Ces réactions permettent de reconnaître exactement de quelle espèce animale provient une tache de sang ou une parcelle de viande et de contrôler la composition attribuée à un échantillon de farine. Elles nous ont permis, jusqu'à maintenant, de démontrer que la constitution chimique des protéines du sang chez les espèces animales étroitement apparentées, était différente, mais que certaines protéines, telles que le cristallin de l'œil ou l'albumine du blanc d'œuf, peuvent être identiques chez des espèces animales très éloignées, ou qu'il existe un principe commun dans le sang de mouton et l'extrait de rate, foie, testicule de cobaye ou le rein et la rate de cheval et même dans le rein de la poule : cette propriété ne se retrouve pas chez des espèces plus rapprochées. Par les méthodes actuelles de chimie, ces caractères semblent impossibles ou du moins très difficiles à mettre en évidence.

Nous pouvons déjà nous rendre compte, d'une manière saisissante, de la délicatesse des méthodes immunologiques et de leur valeur pour l'étude de certains problèmes de la chimie des protéines. Aucune autre méthode n'est capable de déceler des traces aussi infinitésimales de protéine en solution, car, non seulement les méthodes immunologiques sont capables de déceler ces traces, mais elles établissent que les protéines en question appartiennent spécifiquement à telle ou telle espèce et ne sont pas des produits de clivage. Elles permettent également de montrer que les molécules dissoutes sont des protéines intactes ou disloquées, alors que les réactions chimiques ne peuvent guère le démontrer.

Mais pour tirer parti des réactions biologiques, il faut avoir affaire à des matières protéiques déterminées et isolées ; or, les liquides organiques (sang, lait), renferment des mélanges de protéines à complexité désespérante. Le premier point à élucider est donc la purification des protéines de l'organisme.

L'idéal serait de prendre chacun de ces produits purs, débarrassés autant que possible des matières qui ne peuvent que nous gêner dans nos résultats et augmenter le nombre des inconnues. Nous pourrions ainsi attribuer nos résultats à chacun de ces groupements simples et mieux définis et lui donner le rôle exact qu'il mérite, au lieu de nous perdre dans l'étude obscure d'une foule de matières complexes. Sans cela, la chimie de l'immunité ne peut fournir que des résultats fragmentaires et incohérents et nous serons aux prises avec des agents de composition également inconnus, qui nous éloigneront davantage de la réalité.

En un mot, il faut réunir les procédés de la chimie à ceux de l'immunologie : ce sont deux sciences inséparables dans l'étude des colloïdes.

En résumé, nous avons pensé séparer les matières protéiques des mélanges où elles se trouvent autant que les procédés de séparation nous le permettront et étudier comparativement les anti-sérums obtenus par l'inoculation de ces matières, afin de préciser la part qui revient à chacune de celles-ci.

LA SPÉCIFICITÉ BIOLOGIQUE

La spécificité est une propriété, commune à tous les processus biologiques, remarquable par la précision de ses manifestations.

C'est une notion banale que les êtres vivants utilisent les animaux et les plantes pour leurs besoins nutritifs. Chacun d'eux, grâce aux transformations diastatiques qu'ils leur font subir les réduit à l'état de composés chimiques très simples qui peuvent être assimilés, c'est-à-dire servir, par des synthèses appropriées, à former des composés complexes, qui lui sont propres et adaptés à sa personnalité à laquelle ils confèrent sa spécificité. Pour LE DANTEC, « le corps digérant impose au corps digéré son taux personnel ou marque spécifique ».

C'est ainsi que deux greffons de variétés ou même d'espèces différentes, greffés sur un même sujet nourris par conséquent de la même sève, produiront des fruits différents et identiques à ceux des espèces dont ils proviennent.

Nombreux sont les exemples où se manifeste la spécificité des organismes.

La fécondation de l'ovule par le spermatozoïde spécifique seul capable de pénétrer dans la cellule germinative et d'en stimuler la division est encore une manifestation de la spécificité.

Les manifestations de la spécificité apparaissent dans des conditions nombreuses et variées. Certaines d'entre elles sont démonstratives et nos sens sont capables de les saisir ; il en est d'autres qui nous échappent et que nous constatons par des moyens plus ou moins indirects.

Chaque organisme a une composition, des caractères et des réactions qui lui sont spécifiques et qui forment sa person-

nalité. Le fait qu'un chien peut suivre son maître à la trace et le distinguer d'autres personnes uniquement par l'odorat, indique suffisamment que chacun de nous possède une individualité chimique.

C'est ce qui explique, dans les innombrables essais de greffes tissulaires d'un animal à un autre, les échecs constatés si les sujets sont d'espèces différentes. Même dans le cas d'espèces très voisines, on obtient des résultats éphémères et la greffe ne tarde pas à se résorber.

WASSERMANN a constaté qu'il existe entre des espèces, même proches parentes, des différences dans les caractères constituant des albumines plasmatiques et cellulaires rendant les tentatives de greffes très difficiles.

A. CARREL en interchangeant, par greffe, le rein chez deux animaux de même espèce obtient pendant quelques semaines un fonctionnement rénal normal, puis cette fonction cesse. L'organe étranger devient cancéreux, identique en apparence, le tissu greffé est, en réalité, en désharmonie avec les autres éléments de l'organisme hôte. Il ne fait pas partie de sa personnalité biologique. Il échappe à la merveilleuse discipline de l'ensemble.

L'introduction de substances alimentaires par une autre voie que la voie entérale, la seule disposée pour en assurer les transformations digestives, préparatoires à une élaboration synthétique spécifique, ou tout obstacle apporté au métabolisme normal d'un organisme vivant provoque chez celui-ci une réaction défensive qui se manifeste toujours d'une façon spécifique en rapport avec le trouble survenu.

Prenons l'exemple offert par certaines oscillaires exposées à la lumière colorée. Ces végétaux sont susceptibles de modifier leur teinte qui, normalement, est violet grisâtre. Ils prennent une nuance verte dans la lumière rouge ; rouge dans la lumière verte ; bleu-verdâtre dans la lumière jaune ; brun-jaunâtre dans la lumière bleue.

L'apparition d'anticorps spécifiques représente une manifestation particulière d'une propriété générale, qui, de quelque façon qu'elle se trahisse, est toujours aussi énigmatique.

La spécificité dans les réactions immunologiques

Les travaux sur les réactions immunologiques ont puissamment contribué au progrès de nos connaissances biologiques et semblent avoir expliqué, dans une large mesure, les bases essentielles de la spécificité biologique.

Le mécanisme admirable par lequel l'organisme parvient toujours, lorsqu'on l'immunise contre un antigène donné à élaborer un anticorps atteignant, grâce à une affinité spécifique, l'antigène en cause et uniquement celui-ci, nous a permis d'établir la spécificité biologique des matières vivantes.

L'inégale réceptivité des espèces vis-à-vis d'un germe déterminé autorise à présumer que l'appareil défensif ne doit pas être, chez toutes, constitué de façon exactement identique. Sans doute, existe-t-il d'une espèce à l'autre dans la composition des cellules ou des principes défensifs certaines particularités distinctives, peut-être subtiles et difficiles à saisir, mais dont le retentissement sur les péripéties de la lutte et son issue doit être néanmoins décisif.

En réalité, chez les divers animaux, les mêmes fonctions protectrices se retrouvent, leurs traits essentiels sont communs et cependant le cachet spécifique les marque ineffaçablement de son empreinte.

La spécificité de la réaction de précipitation apporte une preuve nouvelle des relations d'évolution des animaux d'une manière qui eut satisfait DARWIN et HUXLEY s'ils avaient pu en être témoins.

Les réactions de sensibilisation, le choc anaphylactique et la fixation du complément ne sont que des preuves supplémen-

taires qui démontrent la spécificité des réactions antigènes-anticorps.

En résumé, les manifestations de la spécificité peuvent être étudiées sous les trois titres principaux : antigène, anticorps et réaction antigène-anticorps.

Antigène

Les antigènes sont des substances qui, introduites dans l'organisme dans des conditions convenables, provoquent sa défense spécifique et y résistent pendant un certain temps avant d'être digérées ou éliminées. Elles produisent les éléments spécifiques de la défense : les anticorps.

Les antigènes, même très toxiques, comme les venins des serpents sont inoffensifs par ingestion, car ils ne peuvent pénétrer dans l'intimité des tissus organiques avant d'être débarrassés par une hydrolyse protéolytique de leur cachet de spécificité ou de leur caractère de protéine étrangère.

On admet, théoriquement, comme principe fondamental que les réactions d'immunité sont liées à la digestion parentérale des antigènes qui ont accès aux tissus de l'organisme.

Ce qui joue, dans le phénomène d'immunité, ce n'est pas seulement la tolérance observée qui atteint parfois une incroyable amplitude ; certaines propriétés particulières du sang interviennent, celles-ci même soigneusement débarrassées de tout élément cellulaire neutralisent « in vitro » les toxines au point de les rendre inoffensives pour les animaux les plus sensibles.

Rien de tel ne se présente pour les poisons de l'ancienne toxicologie ; ceux-ci ne peuvent être rangés parmi les antigènes, car le sérum d'un buveur endurci n'altère pas l'alcool et celui du morphinomane le plus invétéré laisse la morphine intacte.

L'aptitude à provoquer la formation d'anticorps et à réagir spécifiquement en présence de ceux-ci est l'apanage exclusif de ces substances si complexes et encore si mystérieuses dont les toxines microbiennes et certains principes d'origine animale ou végétale sont des exemples classiques.

Il faut que l'antigène soit capable d'impressionner l'organisme et d'y subsister le temps nécessaire au développement de principes défensifs spécifiques.

LES PRINCIPAUX CARACTERES PHYSICO-CHIMIQUES DES ANTIGENES

Au point de vue chimique, quelles sont, dans la constitution de l'antigène, les particularités qui rendent compte de l'apparition d'un anticorps déterminé.

Des expériences contradictoires ont d'abord contribué à éclairer, puis retardé et compliqué, ce grand problème des caractères physico-chimiques des antigènes. Des innombrables recherches éparses entreprises sur cette question, un fait certain se dégage indubitablement : Un antigène doit être une substance étrangère, solubilisable, à grosse molécule et active sur la lumière polarisée ; la réciproque est loin d'être la règle, mais on peut dire que ces trois qualités correspondent parfaitement aux travaux et aux conceptions de tous les auteurs.

Dans les conditions normales, toutes les matières provenant d'un animal sont incapables de provoquer dans son propre organisme, l'apparition d'anticorps. Jusqu'ici, la plupart des essais de production d'iso-anticorps sont restés infructueux.

A titre exceptionnel, signalons la relation de DOERR qui cite l'exemple de personnes ayant présenté des réactions antigènes, anticorps typiques à la suite d'injections répétées de sérum humain.

Par contre, les antigènes issus d'un organisme, mais chi-

miquement modifiés, peuvent se comporter vis-à-vis de celui-ci comme des produits étrangers.

Dans certains cas spéciaux, des injections renouvelées d'extraits d'humeurs ou de tissus d'un animal à un autre de la même espèce, peuvent provoquer la production d'anticorps (isoanticorps). Cette activité antigénique est généralement faible. Elle s'expliquerait par certaines altérations endogènes des auto-protéines dont HENRY LE BOURDELLES et SÉDALLIAN ont montré l'importance.

Cette notion apparaît capitale pour expliquer certaines exceptions apparentes à la règle de la spécificité biologique.

Un antigène qui reste insoluble dans les tissus d'un animal ne peut atteindre le foyer de production des anticorps et, de ce fait, ne peut manifester aucune activité antigénique.

Les protéines coagulées par la chaleur et non modifiées chimiquement ne paraissent plus antigéniques parce que non solubles. Si on réussit à les rendre solubilisables, elles recouvrent leur pouvoir antigénique, tandis que d'autres, telle la caséine, qui résiste à la température de l'ébullition, sans perdre sa solubilité, restent actives.

Le cas de l'hémoglobine est un exemple remarquable de l'importance du facteur solubilité. Les travaux de HEKTOEN et SCHULHOFF, confirmés par ceux d'HEIDELBERGER et LANDSTEINER, ont établi que ses deux éléments constitutionnels, l'hématine et la globine, ne sont pas antigéniques, alors que l'hémoglobine l'est, parce que plus soluble que ses deux composants.

La grande dimension des antigènes est indispensable. C'est précisément à leur grosseur moléculaire et à leur nature colloïdale qu'est due la cause essentielle de l'activité antigénique.

D'après ZINSSER, les antigènes doivent être des colloïdes non diffusibles (à grosse molécule) qui, en conséquence, ne peuvent pénétrer rapidement dans n'importe quelle cellule et y être détruites. Il est donc nécessaire que des anticorps solubles extra-cellulaires soient formés pour réagir avec ces

matières étrangères et contribuer à les détruire. Lorsque la molécule étrangère est suffisamment petite, pour pénétrer dans les cellules par diffusion, la production d'anticorps nécessaire à sa destruction devient inutile. Ceci démontre assez bien pourquoi les produits simples ne peuvent pas jouer le rôle d'antigène.

Un exemple bien démonstratif est celui des produits de clivage des protéines. Ces produits même injectés ensemble sont dépourvus de tous pouvoirs antigéniques, tandis que ces mêmes produits groupés (synthétiquement) en molécules colloïdales (plastéine) récupèrent l'activité antigénique.

Ensuite, on a observé que la gélatine, produit artificiel d'hydrolyse du collagène (tissu conjonctif) ne témoigne aucun effet antigénique appréciable (WELLS, STARIN, LANDSTEINER, KAHN et Mc NEIL). On sait que la gélatine est caractérisée chimiquement par l'absence de radicaux aromatiques. Elle ne contient ni tryptophane, ni tyrosine, mais une très faible quantité de phenylalanine. On a conclu que les radicaux aromatiques de la molécule jouent un rôle important dans l'activité antigénique.

VAUGHAN en 1913 démontra que pour les protéines clivées en fraction toxique et non toxique, c'est la fraction toxique qui contient les radicaux aromatiques.

OBERMAYER et PICK ont démontré que les radicaux aromatiques des protéines peuvent jouer un rôle important dans la détermination des caractères spécifiques des réactions d'immunité.

Les substances parvenues dans les humeurs ou les organes internes doivent même pour fonctionner comme antigène être susceptibles d'y persister sans altération pendant un temps fort appréciable. (Les antigènes injectés peuvent, grâce à la réaction de précipitation être décelés dans le sang pendant plusieurs jours). Les substances trop facilement attaquables par le sang sont inaptes précisément parce qu'elles perdent trop vite leur individualité.

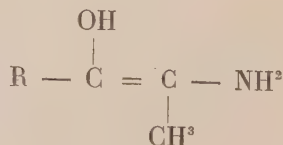
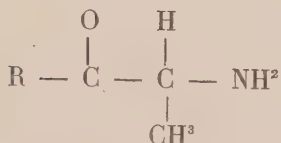
WELLS en 1909 a montré que l'albumine cristallisée traitée par l'acide chlorhydrique de manière à obtenir une acidalbumine garde son activité antigénique, tandis qu'elle la perd complètement si on la transforme par des méthodes appropriées en albuminate alcalin.

Ultérieurement DAKIN (1912), montre que l'action des alcalis sur les protéines dépend d'une simple tautomérisation du type cétone-énolique ayant pour conséquence la suppression de l'activité optique (1) d'où impossibilité absolue de subir l'action des agents de l'hydrolyse protéolytique.

Cette importante découverte nous a permis d'établir les relations étroites qui existaient entre le pouvoir spécifique des antigènes et leur activité optique. Cette conception est solidement étayée par le fait que ces protéines perdent simultanément leur pouvoir antigène et leur digestibilité par un simple phénomène d'inactivation optique.

Ces protéines inactives sont solubles, elles donnent les réactions typiques des protéines, restent coagulables par la chaleur et renferment la proportion normale d'acides aminés.

Leur seule transformation physico-chimique, comme nous avons dit, semble constituée par l'énolisation des acides aminés dont le radical aminé est lié à un carbonyle à l'intérieur de la molécule protéinique, tandis que les groupes terminaux des acides aminés contenant un groupe carboxyle libre ne sont pas modifiés.



(1) Nous nous permettons de faire remarquer que le terme « racémique » employé souvent par de nombreux auteurs en parlant de la fonction énolique, est impropre. En effet, cette fonction est inactive optiquement « par nature » et chacun sait que « racémique » signifie inactif par compensation.

Injectés sous la peau ces produits inactivés sont éliminés en nature dans l'urine (DAKIN).

Donc, il est vraisemblable de conclure que le pouvoir antigénique dépend de la digestibilité par voie parentérale qui peut être sous l'influence de l'activité optique.

LANDSTEINER croit plutôt que ces antigènes inertes manquent simplement de la structure chimique nécessaire pour provoquer la formation des anticorps, indépendamment de leur digestibilité.

LANDSTEINER et BARRON ont constaté que le sérum de cheval traité par NAOH perd non seulement sa fonction antigénique, mais aussi son aptitude à fixer les anticorps pour le sérum de cheval. Si ce sérum inactivé est traité par l'acide nitrique concentré, les protéïnes alcalins sont convertis en Xantho-protéïnes antigéniques. Dès lors, ils se comportent à tous points de vue comme une protéïne préparée par nitration du sérum de cheval normal non traité préalablement par le soude.

En résumé, les caractères physico-chimiques essentiels des antigènes sont les suivants : substances étrangères solubilisables, à grosse molécule contenant des radicaux aromatiques, possédant une activité optique et capables de résister temporairement aux moyens de défense de l'organisme.

QUELLE EST LA NATURE CHIMIQUE DE L'ANTIGÈNE ?

La plupart des substances antigéniques sont des protéines. Jusqu'ici, il n'a pas été démontré que d'autres substances aient manifesté un réel pouvoir antigénique et produit des anticorps spécifiques. C'est ce qui explique qu'aujourd'hui les termes d'antigène et de protéine soient si souvent employés l'un pour l'autre.

S'il est acquis que tous les antigènes sont des protéides, il ne semble pas que la réciproque soit exacte. Même si l'on réserve le terme de protéide à tous ces agrégats colloïdaux qui contiennent la totalité des acides aminés habituellement trouvés dans les protéides complètes.

Cette année, HEIDELBERGER a signalé que la spécificité des polysaccharides ajoutés aux lipoides a été démontrée par certains expérimentateurs, mais leurs travaux n'ayant pas encore été publiés nous ne pouvons donner de plus amples détails.

Rôle des lipoides comme antigènes

Il a été très longtemps discuté. MUCHE et son école, dans le processus d'immunisation, reconnaissent aux protéines le rôle essentiel de disperser les particules lipoidiques auxquelles, ils ont attribué toute l'activité antigénique. D'après ces auteurs, les composés protéino-lipoidiques joueraient ensemble le rôle antigénique et ils seraient redevables de leur activité antigénique aux lipoides seuls.

WARDEN (1918) dans ses travaux sur les lipoides des bacilles tuberculeux, de la toxine diphtérique et des globules rouges prétend avoir obtenu des anticorps spécifiques par immunisation

avec des mélanges lipoïdiques artificiels ressemblant à ceux des lipoïdes cellulaires.

Ces conceptions sont difficiles à admettre. En effet, les protéines pures cristallisées du sérum, qui nous ont servi comme antigène après neuf lavages à l'acétone (à 0°), 4 à l'éther et plusieurs à l'eau distillée peuvent être considérées comme définitivement débarrassées de lipoïdes. Pourtant, elles n'ont rien perdu de leurs propriétés antigéniques.

Les protéines les plus pures préparées par les autres auteurs, telle l'albumine d'œuf cristallisée et les protéines végétales, constituent des antigènes aussi actifs sinon plus, que les mêmes produits non purifiés.

L'albumine cristallisée du lait de vache dans nos expériences a eu toujours une activité beaucoup plus grande que le lait ou le lactosérum entier.

D'un autre côté, même dans le mélange protéine-lipoïde, l'exclusivité de l'action antigénique de protéine est démontrée.

KURT MEYER (1914), a constaté que les extraits lipoïdiques des vers parasites ne font apparaître des anticorps (dételés par l'anaphylaxie) qu'à la condition de renfermer des albuminoïdes.

LEVADITI et MUTTERMILCH (1908), avaient constaté que des extraits de vibrion cholérique dans l'alcool à 80° peuvent fonctionner comme antigène, mais PRAUSNITZ (1911), prouve que cette qualité disparaît lorsqu'on filtre l'extrait sur bougie BERKEFELD.

Nous savons que tous les lipoïdes résistent à l'action de tous les agents coagulants des protéines, pourtant la coagulation complète et irréversible des protéines enlève entièrement l'activité antigénique des mélanges protéines lipoïdes.

Les prévisions de certains auteurs concernant l'importance des lipoïdes dans les réactions spécialement envisagées en immunité ne sont qu'imparfaitement réalisées. Plusieurs auteurs : FITZ, GÉRALD et LEATHES (1912), THIELE et EMBELTON

(1913), qui se sont préoccupés de la qualité antigénique des lipoïdes extraits des globules rouges, n'ont obtenu que des résultats négatifs. Ils prétendent que ces extraits n'ont même pas les propriétés de récepteurs.

BORCIC (1920), a répété les expériences de WARDEN, mais il n'a pas pu montrer que les lipoïdes débarrassés des protéines par des moyens radicaux soient capables de produire des agglutinines. Les travaux de BEUMER (1921) et SCHMIDT prouvent que les résultats obtenus ne dépendent pas des lipoïdes eux-mêmes, mais de la présence des protéines.

D'après BORDET : Dans la séro-réaction de la syphilis, les lipoïdes participent à la capture de l'alexine, mais n'interviennent ni comme antigènes ni comme récepteurs.

Quel rôle antigénique devons-nous donc attribuer aux lipoïdes en particulier dans un complexe renfermant aussi des albuminoïdes ? C'est d'ailleurs dans cet état que les lipoïdes existent dans l'organisme.

Répétons l'expérience de BORDET : Prenons un peu de sérum de bœuf. Desséchons-en une partie, extrayons le résidu par l'alcool méthylique, après évaporation émulsionnons les lipoïdes obtenus dans la solution physiologique, ajoutons un peu de sérum intact : on constate aussitôt que ces lipoïdes qui pourtant proviennent du sérum de bœuf ne flocculent pas sous l'influence de ce sérum. Normalement, donc, dans celui-ci, les lipoïdes doivent être préservés de l'agglutination grâce à leur adsorption par un « colloïde protecteur ».

Enfin, il ne faut pas oublier que (KOLMER et TWIST) le sérum de lapin ou de chien donne fréquemment des réactions de fixation positives avec les antigènes lipoïdiques en l'absence de toute immunisation.

Rien, *à priori*, ne s'oppose à ce que de tels agrégats puissent se comporter comme antigènes.

Dans cet ordre d'idées, PICK et SCHWARTZ (1909), ont montré que la présence de lécithine accroît le pouvoir antigénique des

bactéries, par exemple, on obtient un sérum antityphique plus agglutinant lorsqu'on injecte les bacilles en mélange avec de la lécithine. Cette observation explique peut-être (par extension de cette propriété aux protéines en général) l'activité antigénique de certaines préparations de lipoides renfermant des traces infimes de protéine. On peut admettre que l'action stimulante des lipoides accroît suffisamment le pouvoir antigène des protéines pour le rendre apparent.

VON DUNGEN et COCA (1907), DÉAN (1917), ont montré qu'une solution chloroformique de lécithine maintient en suspension fine des colloïdes, tels que le venin de cobra, la trypsine, etc... Aujourd'hui, en dehors des lipoides, nous savons que les protéines s'accroient volontiers à une foule des matières très diverses : précipités minéraux, graisses, benzol, toluol, paraffine, etc... sans véritablement être dissoutes. Elles peuvent donc être entraînées par adsorption dans certains liquides qui dissolvent leur support, et y glisser tout en passant inaperçues.

Insoluble, à l'état pur, dans l'alcool, chloroforme, etc..., elles peuvent, lorsque ces réactifs sont chargés, par exemple, de lipoides, les souiller à l'insu de l'expérimentateur, en s'y divisant en particules extrêmement fines.

D'ailleurs, les lipoides considérés comme antigènes dans certaines expériences n'ont pas donné avec l'antisérum des réactions absolument spécifiques.

Reste l'intervention des lipoides dans les substances antigènes hétérogéniques décrite par FORSSMANN. Ces substances bien que présentes dans les tissus les plus variés des différents animaux, sont cependant capables de provoquer la formation d'anticorps hémolytiques pour les globules rouges du mouton. Ces antigènes sont solubles dans l'alcool, éther, insolubles dans l'eau et acétone, ainsi que l'ont confirmé SIMMS et LANDSTEINER. En 1923, ce dernier a démontré qu'il suffit de combiner préalablement les lipoides extraits par l'alcool des organes d'animaux du type cobaye avec une albuminoïde étrangère quel-

conque pour obtenir un antiserum possédant tous les caractères de l'antiserum préparé par l'antigène FORSSMANN.

Mais comme nous le verrons, leurs travaux ne sont pas en faveur du rôle d'antigène actif (producteur d'anticorps) des lipoïdes. Ces auteurs trouvent, en effet, que l'élément lipoïdique isolé à l'état pur, virtuellement non antigénique, par lui-même, produit un antigène hétérologue actif s'il est mélangé au sérum normal, c'est-à-dire qu'il est comparable à toutes les substances désignées par LANDSTEINER sous le nom « haptènes », (dépourvus de l'activité antigénique, agissent néanmoins spécifiquement avec les anticorps).

Il n'est pas cependant sans intérêt de signaler que LANDSTEINER et LEVENE en 1925, ont indiqué que la fraction spécifique de cet antigène hétérogénique est insoluble dans les solvants des graisses, qu'elle donne un hydrate de carbone par dialyse et ne donne pas la réaction du biuret.

Enfin, jusqu'à maintenant on n'a pu trouver aucune différence chimique entre les lipoïdes des diverses espèces. Par conséquent, ils ne peuvent pas se comporter comme étrangers.

En résumé, jusqu'à ce jour, on n'a pu démontrer le caractère antigénique des lipoïdes. Ces substances n'ont pas été capables de produire des anticorps spécifiques par l'injection à l'animal. Mais il est probable que ces matières peuvent s'unir chimiquement aux protéines et modifier leur spécificité.

En outre, la présence des lipoïdes dans les solutions antigéniques peut stimuler la défense de l'organisme et la production des anticorps peut-être au même titre que les résultats obtenus par RAMON en ajoutant une foule de substances étrangères inactives (comme le tapioca).

ANTIGENE — RECEPTEUR — GROUPEMENT SPECIFIQUE

a) *Relation entre le pouvoir antigène et le pouvoir récepteur.*

Lorsqu'on immunise un organisme contre une matière protéique soigneusement purifiée et qu'on obtient, par exemple, une précipitine spécifique, il est légitime puisqu'on a eu recours à une substance unique de conclure que celle-ci est capable à la fois de faire disparaître l'anticorps (pouvoir antigène), et de réagir avec lui en donnant lieu, par exemple, à une réaction de précipitation (pouvoir récepteur). *Antigène et récepteur ne font qu'un.*

Cette idée était généralement admise lorsque les travaux de BANG et FORSSMANN (1906), l'ont examinée de plus près.

Ces auteurs ont trouvé dans les extraits éthérés de globules rouges : de cheval, de bœuf et de cobaye, une substance insoluble dans l'acétone et qui se redissout à chaud dans le benzol. Elle fonctionne comme lysinogène, c'est-à-dire que son injection à un animal engendre la sensibilisatrice spécifique ayant le pouvoir de lyser les hématies de cet animal. Mais il existe dans les globules rouges une autre substance capable de s'unir à la sensibilisatrice, agissant donc comme récepteur. Elle est différente du lysinogène. Par exemple, elle est notamment insoluble dans l'acétone et soluble dans l'alcool. Autre caractère plus important, son injection dans l'organisme n'est pas suivie de l'apparition d'anticorps.

Quoique les procédés d'extraction de ces auteurs aient donné lieu à de nombreuses critiques ; ces expériences montrent que des matières ayant les caractères des lécithines (solubles dans l'alcool, l'éther et insolubles dans l'acétone) peuvent être récepteurs, c'est-à-dire réagissent fortement en présence de

certaines antisérums, sans manifester toutefois le caractère antigénique.

PICK (1902), a extrait des cellules jeunes de bacilles typhiques une substance soluble dans l'alcool, ne donnant pas les réactions ordinaires des protéines (elle résiste à l'action de chauffage et aux enzymes protéolytiques). Cette substance donne une réaction spécifique avec le sérum antiparatyphique, mais ne peut provoquer la formation d'anticorps.

ZINSSER et PARKER en 1923 ont observé le même phénomène avec des cultures de pneumocoques, de bacille de l'influenza et de staphylocoques.

Dans le même ordre d'idées, MULLER et TOMESFIK ont trouvé un hydrate de carbone complexe réagissant avec une précipitine anti-levure sans être par elle-même antigénique.

En résumé, on admet, parfois, qu'une substance qui réagit avec un immunsérum spécifique est un antigène. Bien que cette conception soit généralement correcte, elle comporte des exceptions qui empêchent de considérer de telles réactions comme une preuve décisive d'activité antigénique.

En effet, des substances telles que les polysaccharides complexes ou même les léciithines ont le pouvoir de réagir spécifiquement avec l'antisérum, tandis que ces substances à elles seules ne peuvent produire des anticorps.

Or, une substance capable de faire apparaître des anticorps, c'est-à-dire de fonctionner comme antigène est toujours douée de pouvoirs récepteurs, le fait n'est pas douteux. Mais on a longtemps admis l'inverse. Aujourd'hui, il est bien démontré que le pouvoir récepteur n'a aucun rapport avec le grand bloc des protéines et qu'il peut exister en dehors de l'antigène.

b) *Quelle est la partie de l'antigène produisant la spécificité?*

Cette question a été éclairée par les travaux de OBERMAYER et PICK en Autriche, et LANDSTEINER et AVERY en Amérique.

Ces auteurs ont principalement étudié les propriétés immunologiques des protéines artificielles. Ils ont utilisé dans leurs

expériences des protéines unies à divers radicaux simples.

OBERMAYER et PICK injectent à des lapins du sérum homologue nitraté. Ils obtiennent un antiserum inactif en présence du sérum de lapin neuf, mais qui précipite les protéines nitratées de toutes les espèces.

De même, LANDSTEINER immunise un lapin avec du sérum de cheval dont les protéines ont été combinées à l'acide métanilique (acide aminobenzène sulfonique). L'antisérum obtenu donne de fortes réactions de précipitation avec tous les autres composés protéiniques de l'acide métanilique. L'origine et la nature de la protéine n'ont aucune influence sur l'expérience. La réaction est aussi intense avec la gliadine, la globine, la mucine, la caséine, la légumine, la soie, le sérum de lapin qu'avec l'antigène de cheval.

Si, sur l'antisérum obtenu avec des protéines nitratées, on fait agir des produits de désintégration des matières protéiques, la réaction de précipitation semble diminuer d'intensité avec la simplicité du produit envisagé. Les albumoses nitratées ne donnent que de légères réactions de précipitation.

Les acides animés et les peptones simples nitratés ne donnent aucun précipité. Ces produits simples s'unissent cependant aux anticorps. Pourquoi n'apparaît-il aucun précipité ? L'explication nous est fournie par BORDET.

Pour celui-ci, la réaction de précipitation ne serait qu'un acte physique dû à la densité du conglomerat formé par l'union antigène-anticorps. Les éléments constitutifs de la molécule protéique n'auraient pas individuellement un poids suffisant pour déterminer la formation d'un précipité. En effet, si au mélange anticorps nitraté, plus albumose nitraté (ou même des produits nitratés encore plus simples) on ajoute une protéine nitratée, il ne se produit pas davantage de précipité ; il ne reste plus d'anticorps libres. Ils se sont fixés sur l'albumose qui joue ainsi un rôle inhibiteur. Cette inhibition est spécifique des radicaux ajoutés à la protéine.

Les mêmes résultats ont été obtenus par LANDSTEINER pour les protéines iodées, diazotées et acétylées. Ces matières forment des espèces chimiques distinctes, correspondant chacune à un antisérum distinct.

Citons enfin les remarquables expériences d'AVERY et ses collaborateurs, qui ont montré que la spécificité si rigoureuse des trois types de pneumocoque était due à un polysaccharide propre à chaque type, sécrété par sa capsule.

En débarrassant le PnIII du sucre renfermé dans sa capsule, par une diastase spéciale, DUBOS a observé que ce germe perdait toute la spécificité d'origine. Les microbes, quoique vivants, sont dépourvus de virulence et incapables d'envahir l'organisme.

HEIDELBERGER montre que ces sucres sont de constitution chimique différente et leurs propriétés chimiques permettent facilement de les distinguer.

Bien plus, on est arrivé à faire acquérir aux pneumocoques débarrassés de leur sucre spécifique la propriété de s'entourer du sucre d'un type différent. On a pu ainsi transformer le pneumocoque III par exemple, en pneumocoque I ou II.

Puisque les hydrates de carbone à l'état isolé ne peuvent produire des anticorps, AVERY conclut qu'ils doivent exister dans le microbe sous une forme de combinaison chimique avec une protéine ou une autre substance qui leur donne le pouvoir antigénique.

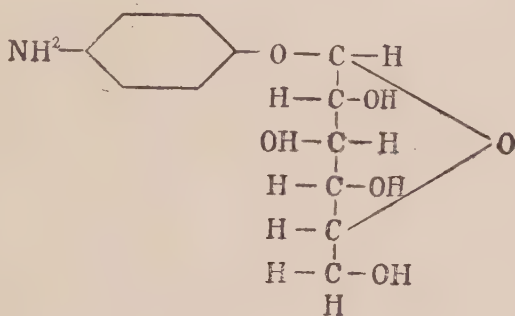
Ils ont pris le sucre de PnIII, purifié sans aucune trace — d'azote et qui, à lui seul, était incapable de provoquer la production des anticorps.

GOEBEL obtint l'amino-benzyle-éther de ce sucre qu'il combina à la globuline de cheval de façon que tous les groupements spécifiques de ce sucre restassent entièrement intacts. Il obtint ainsi un antigène soluble capable de produire dans le sang des lapins un antisérum spécifique.

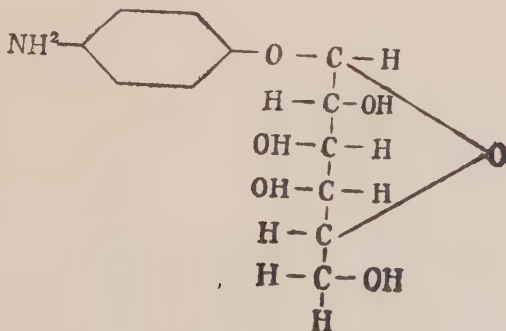
Trouvant le sucre de PNIII trop complexe (1), ces auteurs poussent leurs expériences pour savoir quel serait le résultat de l'introduction d'un radical de sucre simple dans une molécule de protéine au point de vue de l'orientation de la spécificité antigénique.

Ils choisirent deux sucres simples : le glucose et le galactose. Ces deux sucres sont deux stéréo-isomères ! Ils ne diffèrent que par la position, dans l'espace, des groupes H et OH fixés sur l'un des atomes de C.

Partant de ces deux sucres, GOEBEL réussit à synthétiser les para-aminophénol glucoside (I).



et para-aminophénol galactoside (II).



(1) BABER et COEBEL indiquent comme P. M. de sucre de PNIII 118000.

Chacun de ces deux dérivés fut combiné à la globuline de sérum de cheval et à l'albumine d'œuf de façon à obtenir des composés définis (sucre-azo-protéine que l'on peut appeler : galacto-globuline, galacto-albumine, gluco-globuline, gluco-albumine).

Ces produits furent injectés à des lapins et les antisérums obtenus soumis à des réactions immunologiques.

Celles-ci montrèrent que le sérum antigluco-albumine précipite non seulement l'antigène correspondant, mais aussi la gluco-globuline.

De même, le sérum antigalacto-albumine précipite la galacto-globuline. Les anticorps antigluco-albumine et gluco-globuline sont donc identiques. La spécificité est déterminée uniquement par le radical sucre. Elle est entièrement indépendante de la protéine qui lui sert de support.

Les deux sucres utilisés ne diffèrent, comme nous l'avons dit plus haut, que par leur structure stéréochimique. Une simple rotation de 180° des deux éléments H et OH autour d'un atome de C suffit à changer complètement la spécificité sérologique de deux substances par ailleurs complètement identiques.

HEIDELBERGER et AVERY montrent que chez les Pn atténués, la matière protéique commune à toutes les espèces existe seule, c'est la cause pour laquelle le diagnostic de l'espèce devint impossible.

Inversement, LANDSTEINER et VAN DER SCHEER ont étudié les phénylazo-hétéro-albumoses et les proto-albumoses et ont montré que les antisérums obtenus par ces deux produits issus de la dégradation du sérum de cheval donnent des réactions croisées avec ces deux antigènes, mais non pas avec les produits similaires d'autres protéines.

En résumé, la spécificité paraît être due à certains groupements particuliers comme le quatrième carbone asymétrique de la molécule glucose par exemple.

Un autre facteur non moins important de la spécificité est la position des radicaux spécifiques dans la molécule protéique.

Les auteurs précédents ont montré que dans les protéines artificielles, la condition essentielle du changement de la spécificité était dû à la fixation de ces groupements sur les noyaux benzéniques.

En effet, des agents chimiques comme la formaldéhyde laissent le cachet de la spécificité d'origine intacte car, cette matière ne se fixe pas sur les noyaux benzéniques.

De plus, LANDSTEINER a montré qu'un groupement chimique apporte des caractères antigéniques différents à une protéine suivant qu'il est fixé en ortho, méta ou para sur des noyaux phénolés de cette protéine.

Il résulte de ces conclusions que de légères modifications dans la constitution chimique de l'antigène ne portant, ni sur les groupements spécifiques, ni sur leurs positions ne modifieront nullement la spécificité de l'antigène.

Ces connaissances nous permettent de comprendre et d'interpréter certains faits en apparence paradoxaux.

D'après PICK, les agents physiques comme la chaleur, le froid, modifieront le caractère antigénique des protéines sans apporter des changements essentiels à leur structure chimique : ils leur donneraient un caractère spécial de spécificité. Un antisérum obtenu par une protéine chauffée ne serait actif qu'en présence de la même protéine chauffée dans des conditions identiques. Son action serait nulle sur cette protéine à l'état frais.

Cette façon de voir a été modifiée en 1929 par les expériences des Professeurs E. NICOLAS et de KATRANJIEFF. Ces auteurs ont montré que la chaleur ne crée par toujours une spécificité nouvelle pour les protéines. En effet, ils ont obtenu le phénomène de précipitation en mettant en présence de l'antisérum, obtenu avec une protéine chauffée, la même

protéine non chauffée. FUDJIWARD affirme même pouvoir éviter par les antigènes coagulés, la précipitation non spécifique, notamment celle due aux parentés sanguines existant entre le singe et l'homme.

Nous-même, comme nous l'exposerons en détail plus loin, nous avons souvent observé que l'antisérum préparé avec une protéine non chauffée précipitait cette protéine chauffée.

Ces faits montrent que, contrairement aux affirmations de PICK, l'action de la chaleur est nulle sur la spécificité, du moins lorsqu'elle n'apporte pas des modifications profondes dans la constitution chimique de l'antigène (insolubilisation complète).

Cela ne nous surprend pas puisque nous savons que la spécificité ne peut varier qu'avec la structure chimique de quelques groupements spécifiques de l'antigène.

c) Quel est le rôle de la molécule protéique dans l'activité antigénique ?

L'inactivation des protéines par la simple tautomérisation du type cétoné-enolique nous démontre bien que le pouvoir antigénique est simplement dû à la présence d'un ou plusieurs atomes asymétriques dans la molécule. Le seul rôle qu'on pourrait attribuer au reste de la molécule protéique, c'est simplement d'empêcher la digestion hâtive des groupements spécifiques, de résister aux agents normaux de la défense organique jusqu'à la production des anticorps.

Contrairement aux hypothèses de NICOLLE (1), il semble bien acquis que certains groupements atomiques susceptibles d'être rattachés à la molécule protéique et de constituer un complexe capable d'exciter la défense de l'organisme (for-

(1) D'après NICOLLE, les éléments toxiques des différentes variétés de venin de serpent, au point de vue de leur constitution chimique doivent être les mêmes. Cependant, ajoutés à des protéines de diverses espèces de serpents, ils produisent des entités-antigéniques différentes.

mation d'anticorps spécifiques) sont les seules particularités dans la constitution de l'antigène, qui rendent compte de l'apparition des anticorps déterminés. Nous avons vu que la désintégration du sérum de cheval en albumose et proto-albuminose ne fait pas disparaître le pouvoir antigène.

Le jour où l'on pourra introduire ces groupements atomiques dans l'organisme et empêcher la digestion hâtive par toute autre substance que ces grosses molécules de protéines on pourra mieux se rendre compte que ces réactions spécifiques de l'immunité ne sont que de simples réactions physico-chimiques cachées sous le voile épais de la molécule protéique.

Déjà, en 1930, JERNOLJEWA et BUJANOWSKAJA ont montré que les injections répétées de triméthylamine et des amines aliphatiques (grasses) primaires en C⁵, C⁶, C⁷ et C¹⁷ amenaient la formation d'anticorps protégeant contre n'importe quelle petite dose d'amine.

Le sérum montrait une spécificité marquée quoiqu'il présentât des réactions croisées avec quelques types voisins.

APPLICATIONS DE LA SPÉCIFICITÉ AUX PROTÉINES DU SANG ET DU LAIT

Nous savons que le lait est formé de deux catégories de matières :

1° Les principes non caractéristiques, c'est-à-dire les matières chimiques, qu'on peut trouver dans les autres humeurs et tissus organiques (eau, NaCl par exemple). Seule la variation de leurs taux donne la physionomie spéciale du lait.

2° Les principes caractéristiques de la sécrétion des glandes mammaires qui ne sont élaborés dans aucune autre partie de l'organisme. La glande mammaire prend dans le sang les matériaux nécessaires à leur formation, et les transforme en d'autres matières chimiquement différentes.

Par exemple, les travaux de Cl. BERNARD, P. BERT, PORCHER, KAUFMANN et MAGNE (1), ont montré que pendant la lactation la mamelle enlève une forte quantité de glucose du sang, mais ce sucre ne peut pas passer directement dans le lait, on n'a jamais pu l'y déceler, même à l'état de traces. La glande mammaire le transforme à son tour en un galactoside de glucose (composé d'une molécule de glucose plus une molécule de son

(1) Cl. BERNARD : le sucre du lait est formé par le glucose du sang.

P. BERT : enlève les mamelles de deux chèvres, fait couvrir celles-ci et voit que l'urine devient très réductrice.

PORCHER : répète l'expérience de P. BERT, et observe qu'en effet, en enlevant les mamelles sur les animaux en lactation, l'urine contient abondamment du sucre, mais que cette matière réductrice est entièrement formée de glucose.

KAUFMANN et MAGNE : le tissu mammaire, qui en repos, consomme autant de sucre que les tissus de la tête, pendant la lactation prend une quantité beaucoup plus grande de sucre au sang.

isomère : galactose) (1) qui est le sucre du lait ou lactose.

A l'état pathologique, la cellule mammaire dont la vitalité a été atteinte fabrique moins de lactose et parfois même on assiste à l'absence totale du sucre dans le lait (MONVOISIN) (2).

A l'état normal, la composition chimique du lait, surtout au point de vue qualitatif, est stable pour chaque espèce. Elle ne dépend nullement de l'alimentation et de l'irrigation mammaire, sauf dans le cas des matières toxiques, qui triomphent de la résistance des tissus mammaires, c'est ainsi qu'on voit quelquefois un produit thérapeutique éliminé dans le lait. La mamelle joue alors le rôle d'émonctoire.

Si nous savons parfaitement dans quelle catégorie ranger la plupart des composants du lait, il n'en est pas de même pour certaine des protéides de ce liquide : lactalbumine, lactoglobuline. On est en droit de se demander si ces protéines du lait sont analogues à celles du sang.

Sont-elles un produit de synthèse de la glande mammaire à partir des protéines du sérum, ou proviennent-elles de la filtration de celles-ci à travers l'épithélium mammaire ? On peut également se demander si les différentes espèces animales renferment des protéines communes, ou si certaines de celles-ci sont empreintes d'un cachet spécifique.

LEBLANC, en 1901, montre que les trois protéines du sérum sanguin : albumine, pseudo-globuline, euglobuline, sont complètement différentes au point de vue de la spécificité immunologique.

D'après GENGOU (1902), le sérum de lapin anti-lait de vache absorbe l'alexine du lait de vache, de brebis, de chèvre, il agit

(1) BRADLEY : il a été impossible de trouver dans la mamelle une diastase pouvant transformer le glucose en galactose.

(2) Quelques échantillons de lait ont été trouvés sans trace de sucre. Comme nous verrons plus loin dans un échantillon prélevé par nous-même sur une jument de vingt ans, nous n'avons pu déceler aucune trace de sucre réducteur.

plus faiblement sur le lait de jument et impressionne d'une façon moins intense le lait de femme.

Le sérum anti-lactosérum de vache n'agit que faiblement sur le sérum de sang de vache. L'auteur prétend que le sérum anti-lait de vache ne donne pas de précipité avec la lactalbumine, tandis qu'il précipite la caséine et la lactoglobuline. L'épreuve de fixation de l'alexine donne des résultats concordants.

Pour MEYER, UHLENHUTH et SCHÜTZ, l'anti-sérum de sang de vache n'agit que faiblement sur le lait de la même espèce.

FLEISCHER (1908), trouve que le sérum anti-caséine réagit avec la caséine de toutes les espèces.

D'après LAMBLING, les groupements aminés aromatiques de la caséine du lait de vache seraient porteurs de la spécificité d'origine.

BAUER et ENGEL (1911), par des réactions sérologiques, montrent que les trois protéines du lait sont différentes entre elles, et que l'albumine et la globuline sont plus voisines l'une de l'autre que de la caséine. Ces auteurs constatent en même temps que l'albumine et la globuline du lait sont biologiquement identiques à celle du sang, et du colostrum. Ces auteurs, en 1912, ont trouvé que le sérum anti-fibrinogène ne précipite pas les sérums du sang.

Les cobayes préparés avec du lait cuit sont sensibles seulement au lait, mais non au sérum, tandis qu'ils sont sensibles si on s'est servi du lait cru, KUDICK et SACHS (1913).

RIMINGTON (1914), avait montré que la caséine n'est qu'une globuline du sang sur laquelle, par éthérification sont fixées des molécules d'acide phosphorique.

NEUBERG et OERTEL (1914), établissent que la globuline du sang, phosphorylée, coagule par la présure.

DUDLEY et WOODMANN en 1915 : En étudiant l'activité optique des substances issues de la transformation, par la méthode de DAKIN, (action des bases alcalines) de la caséine des laits de vache et de brebis, concluent que, si la caséine de ces deux

espèces contient les mêmes acides aminés, en proportions identiques, leurs dispositions dans la molécule sont différentes suivant l'espèce considérée.

L'inactivation, improprement appelée, selon nous : racémisation, épargne toute la tyrosine et la plus grande partie de la lysine de la caséine de brebis, tandis qu'elle est complète pour celle de vache.

CROWTHER et RAISTRICK (1916), confirmés par WOODMANN (1921), ont montré que si la globuline du sérum sanguin, du lait et du colostrum sont identiques, l'albumine du sérum serait différente de celle du lait et du colostrum. Ils prétendent que le taux de la globuline dans le lait descend à 5/100.000 (5×10^{-5}).

DALE et HARTLEY (1916), KATO (1917), observent qu'un cobaye sensibilisé à l'égard d'une des protéines purifiées du sérum cheval, réagit plus vivement à la protéine sensibilisante, et même, quelquefois, la réaction est rigoureusement spécifique. Il n'existe pas de différences appréciables entre les propriétés antigéniques des caséines des diverses espèces animales, mais des méthodes plus délicates permettraient peut-être de les distinguer (Voir les observations de DUDLEY et WOODMANN sur les résultats de l'inactivation par les alcalis).

WELLS et OSBORNE (1921), ont différencié par des réactions anaphylactiques quatre protéines dans le lait de vache : la caséine, la lactalbumine, la lacto-globuline et une protéine soluble dans l'alcool. Seule, la lacto-globuline sensibilise à l'égard du sérum de bœuf.

DOERR et BERGER (1922), prétendent séparer cinq antigènes spécifiques dans le sérum : fibrinogène, euglobuline, pseudo-globuline, albumine C, albumine D.

ABDERHALDEN et ROSSNER (1927), dans leurs recherches spectrophotométriques comparées, sur les caséines des diverses espèces sont amenés à conclure à une concordance assez poussée et peut-être même complète dans la structure intime des

caséines des différents laits qu'ils ont étudiés : lait de femme, vache, chèvre.

PORCHER et MUFFET (1928) constatent que dans la rétention, sous l'influence des leucocytes, il se forme de la globuline aux dépens de la caséine ; en effet, l'injection de caséine iodée dans les mamelles sèches permet d'obtenir des protéines iodées, coagulables par la chaleur ; donc, ces auteurs concluent que les protéines iodées, coagulables par la chaleur, proviennent de la dislocation de la caséine pendant la rétention.

ANGELOFF et KATRANJIEFF (1931) : les anti-sérums préparés, soit par le lait chauffé, soit par le lait frais ne diffèrent ni au point de vue de la spécificité, ni en ce qui concerne la quantité des groupes aspécifiques qu'ils renferment. Ces auteurs, cherchant à savoir si la caséine est un antigène spécifique de l'espèce animale ou un antigène commun à toutes les espèces, ont préparé des sérums anti-caséine (avec la caséine préparée par PORCHER), et anti-lait, ces anti-sérums sont saturés ; avant la saturation, ils précipitent la caséine de vache et le lait des autres espèces avec moins d'activité ; mais après la saturation, ces sérums sont devenus spécifiques du lait de vache. Ils prétendent que leur sérum anti-lait de vache n'a aucune action sur les sérums sanguins homologues et hétérologues. Ces auteurs croient que la faible quantité de lactalbumine et de lactoglobuline, de leur antigène, ne peut avoir qu'une influence négligeable. Donc, ils prétendent que l'activité de leur sérum, saturé, est une preuve de la spécificité d'origine de la caséine.

Il nous semble que ces auteurs n'ont pas interprété leurs expériences comme il convenait.

Ils semblent négliger complètement l'action antigénique des protéines du lait, autres que la caséine, ils prétendent, en effet, qu'elles sont en trop faible quantité pour manifester un rôle antigénique appréciable. Or, c'est un fait bien connu qu'en immunologie, les traces mêmes minimales d'un antigène ne

peuvent être négligées dans la production des anticorps ; d'ailleurs, l'activité antigénique, au point de vue de la rapidité, de l'intensité de la production d'anti-corps, n'est pas proportionnelle à la quantité d'antigène injectée. Un antigène produit une plus grande quantité d'anti-corps sous un faible volume qu'à forte dose.

On conçoit d'autant mieux l'action de la globuline que l'on sait qu'elle a un très grand pouvoir antigénique.

D'autre part, A. et K. utilisent dans leurs expériences la caséine préparée par la méthode de PORCHER, que nous envisagerons plus loin. Si cette méthode de préparation de la caséine au moyen de précipitation répétée, par les acides, permet d'obtenir une poudre débarrassée de la plus grande partie de ses principes minéraux et organiques simples, elle contient des quantités non négligeables de lactoglobuline. Cette caséine est suffisamment pure pour les expériences du Professeur PORCHER, mais d'après cet auteur, elle ne peut pas être utilisée comme une entité antigénique en raison de son association à la globuline, par conséquent, il serait plus juste d'appeler les sérums obtenus par A. et K., sérums anti-caséine et anti-globuline.

Les sérums anti-caséine de ces auteurs précipitent le lait des diverses espèces, ce qui concorde d'ailleurs avec les résultats obtenus par tous les autres auteurs. Après saturation des anticorps aspécifiques, ils ont obtenu des anti-sérums spécifiques, mais ils n'ont pas indiqué l'antigène dont ils se servent pour la saturation.

Etant donné que ces auteurs disposaient seulement de caséine de lait de vache, nous pouvons conclure qu'ils ont utilisé, soit du lait hétérologue, soit de la caséine de lait de vache. Toutefois, l'hypothèse de la saturation par la caséine, c'est-à-dire l'antigène qui a servi à la production des anti-sérums semble peu vraisemblable, car, dans ce cas, les anti-corps auraient été complètement saturés. Reste la saturation par un lait hétérologue ; dans ce cas, il serait plus raisonnable

de conclure qu'ils ont simplement saturés les anti-corps correspondants à l'antigène commun, c'est-à-dire la caséine, et qu'ils ont obtenu des sérums anti-lactoglobulines, qui seraient complètement spécifiques.

Ceci concorde avec les résultats connus et obtenus par les autres auteurs ; de même, dans les expériences de saturation du lait entier, ils ont saturé seulement les anticorps caséine, non pas l'albumine et la globuline.

En un mot, on peut dire que les expériences de ces auteurs ne font que confirmer les résultats déjà admis par ceux qui les ont précédé, PORCHER les résume ainsi dans sa thèse :

La globuline et l'albumine sont communs dans les trois milieux : lait, colostrum, sérum sanguin. Le caractère antigène spécifique relève surtout de l'albumine et de la globuline, beaucoup moins de la caséine, qui paraît être un antigène banal, dont la spécificité n'est nullement démontrée avec les mêmes rigueurs que pour les deux autres protéines.

CHOIX DES METHODES DE SEPARATIONS DES PROTEINES

Sérum sanguin. — La question la plus importante pour nous dans ce travail, consiste dans le choix d'une méthode qui nous permette d'obtenir ces matières protéiques à l'état aussi pur que possible, tout en conservant leurs propriétés biologiques.

La précision des méthodes de l'immunologie ne permet pas de négliger toute impureté, si minime soit-elle. En effet, la plupart des résultats contradictoires obtenus par les auteurs semblent être dus exclusivement à l'impuissance des méthodes employées pour la séparation des protéides et à la difficulté d'obtenir ceux-ci à l'état pur. BERTARELLI en 1904, prétend déjà que si ses anti-sérums contre albumine, pseudo-globuline et euglobuline ne sont pas complètement spécifiques, c'est que les groupements aspécifiques sont dus à l'impureté de ses antigènes. En effet, une saturation croisée lui a permis d'obtenir

des antisérums entièrement spécifiques, prétend-il, de chacune des protéines envisagées.

Il nous faut donc choisir entre les deux méthodes : méthode de séparation par les sels et méthode à l'acétone.

La méthode des sels. — Cette méthode, utilisée dans les instituts et laboratoires de sérothérapie, soit pour l'obtention des sérums concentrés, soit pour la séparation des protéines, est basée sur la précipitation fractionnée des protéines par certaines dilutions de sulfate d'ammonium, de magnésie, de sodium, de chlorure de sodium, c'est ainsi que le sulfate d'Am. à la dilution de 1-30 %, de 30-50 %, de 50—saturation précipite respectivement l'euglobuline, la pseudo-globuline et l'albumine. Cette méthode a permis aux bactériologistes de profiter de certaines propriétés de ces fractions. Mais ces dilutions choisies arbitrairement ne permettent pas d'obtenir des entités chimiques bien définies et différent nettement les unes des autres.

En effet, il semble assez difficile de considérer les précipités obtenus par ces proportions de 29 et 31 % comme deux matières distinctes si on considère que tous les précipités obtenus depuis 30 à 50 % forment une seule entité chimique et jouissent des propriétés entièrement semblables. En effet, PIETTRE a démontré que, dans chacune de ces trois fractions, la pseudo-globuline, par exemple, on trouve les trois protéines du sérum entier et même dans des proportions sensiblement semblables l'albumine, soluble entièrement dans l'eau distillée, la myxoprotéine soluble dans les solutions salines neutres et la globuline, soluble dans les solutions alcalines.

D'un autre côté, toutes les matières existant dans le sérum peuvent influencer la précipitation des protéines et modifier l'action de ces concentrations si strictement définies. Ces dernières peuvent, en effet, jouer un double rôle : les électrolytes changent les propriétés des solutions précipitantes ; les matières grasses qui sont si intimement liées aux protéines entraînent celles-ci avec elles.

Il serait plus logique d'isoler, en premier lieu, toute la masse des protéines et d'éliminer les autres matières minérales et organiques simples. Si les protéines sont ainsi obtenues, chacune d'elle est plus facile à isoler. Mais il faut, en outre, que les agents de séparation soient mieux choisis.

C'est ce qui a amené PIETTRE et VILA à instituer la méthode de séparation des protéines par l'acétone.

Ce procédé nous a semblé le meilleur pour nos investigations, d'autant plus que jusqu'à ce jour, cette méthode n'a pas encore servi pour la séparation des protéines des divers tissus et humeurs organiques, utilisées comme entités antigéniques spécifiques.

La méthode à l'acétone. — L'acétone était utilisé depuis longtemps comme agent précipitant des matières protéiques, mais surtout pour l'obtention des matières qui s'y dissolvent : les corps gras, etc... (Albert FOURNIER, 1915).

Ensuite, PIETTRE et VILA ont eu l'idée d'employer l'acétone non seulement comme un agent de séparation des lipides, mais surtout pour l'obtention des protéines.

Cette méthode est basée sur la propriété deshydratante de l'acétone qui rompt l'équilibre colloïdal des solutions et oblige les protéines à se précipiter tout en conservant en solution la majeure partie des matières minérales et organiques simples. Cette action est complétée par l'éther qui enlève le reste des lipoides (lipoïdes insolubles dans l'acétone).

Ces auteurs ont constaté que l'acétone n'a aucune action chimique sur ces protéines et n'enlève pas leur pouvoir de dispersion ultérieur dans l'eau, à condition d'avoir soin d'opérer à une température voisine de 0°. En effet, nous n'avons observé aucun changement dans les propriétés antigéniques de ces protéines. Et même dix traitements successifs à l'acétone et quatre à l'éther n'enlevaient pas et ne détruisaient pas les anticorps précipitants.

BOUTARIC a montré que le nombre des granules dans les

solutions des protéines préparées à 0° est identique à celui des granules dans le sérum.

VILA montre que les protéines préparées par la méthode à l'acétone conservent toutes leurs propriétés physico-chimiques : par exemple, la viscosité des protéines ne change pas par l'action de l'acétone à 0° et même à des températures supérieures ; l'action coagulante de l'acétone est en rapport direct avec le taux des matières salines qui accompagnent ces protéines.

Le plus grand avantage de cette méthode consiste dans ce fait, qu'on arrive facilement à se débarrasser, au début, de la presque totalité des autres substances existant dans le sérum, telles les matières minérales et les glycerides (mat. grasses).

La première précipitation acétonique débarrasse de la presque totalité du Cl Na et d'un tiers de carbonate alcalin ; un deuxième lavage accentue cette déminéralisation et ainsi de suite.

De plus, les réactifs employés, tels que l'acétone, l'éther, sont beaucoup plus facilement éliminés du milieu que les sels qui exigent une dialyse longue et souvent insuffisante.

PIETTRE (1928), montre que les recherches de Cl dans la globuline, précipitée par Hel, ont été négatives après les lavages et la centrifugation.

Le lait. — Etant donné les inconvénients et l'imprécision des méthodes des sels, ici nous n'envisagerons que les méthodes de préparation par les acides, la présure et la méthode à l'acétone.

La méthode par les acides employée par la plupart des auteurs (Voir thèse de PORCHER : méthode de HAMMARSTEIN, VAN SLYKE et BOSWORTH et, enfin, la méthode employée par PORCHER), permet de séparer la caséine de la presque totalité des matières grasses et autres substances minérales et organiques simples. Mais, fait important, par cette méthode, on ne peut séparer la caséine et la lactoglobuline qui possèdent certaines propriétés iden-

tiques (précipitation par les acides, solubilité dans les alcalis).

Comme le dit PORCHER dans sa thèse, la caséine ainsi préparée est suffisamment pure pour les recherches chimiques qu'il envisage ; mais il n'en est pas de même pour les réactions immunologiques que nous étudions.

On peut, cependant, admettre que cette caséine est entièrement débarrassée de lactalbumine. Elle peut être considérée comme un mélange de caséine et de globuline assez purifiée et surtout débarrassée de lactalbumine.

La seule méthode de séparation, basée sur une propriété spécifique, qui pouvait paraître donner la caséine pure, c'était l'emprésurage. Mais nous savons que la caséine-présure n'est pas une caséine semblable à celle qui existe dans le lait.

En agitant fortement le lait pendant l'emprésurage pour empêcher sa prise en masse, on peut éliminer la caséine sans entraînement important des autres protéines et obtenir un sérum contenant de la lactoglobuline et la lactalbumine. On séparera ces substances facilement, par les mêmes méthodes que dans le sérum sanguin, par exemple par la méthode à l'acétone de PIETTRE (Voir *C. R., A. C. des Sciences*, 1924, page 333).

La méthode de l'acétone est basée sur la séparation de la lactoglobuline et de la lactalbumine dans le lactosérum débarrassé de la caséine par l'action de la présure. Mais on ne sait pas si la présure est véritablement capable d'éliminer la totalité de la caséine ou seulement une grande partie. (En effet, si on considère la caséine comme un antigène distinct, nous avons pu produire le choc anaphylactique comme on verra plus loin sur le lapin 28, sensibilisé par la caséine chauffée à 100° par l'injection du filtrat de lactosérum ayant subi pendant 48 heures l'action de la présure).

C'est pourquoi nous nous sommes contenté d'obtenir la lactalbumine qui, seule, une fois préparée par la méthode à l'acétone, nous a permis d'obtenir dans l'eau distillée une

solution claire passant entièrement à travers le filtre et sur la terre d'infusoire.

Après la saturation par l'éther à 0°, cette solution centrifugée, ne nous donne aucun culot. La lactalbumine séparée par évaporation de la solution dans le vide sulfurique, nous a donné des cristaux transparents, légèrement rosés, entièrement solubles dans l'eau distillée, d'un aspect identique à ceux de sérum albumine obtenus à partir du sérum sanguin.

Enfin, étant donné la faible action de la présure sur les lait riches en albuminoïdes différents de la caséine, comme le lait de femme, nous nous sommes contenté d'isoler par la méthode à l'acétone le complexe caséine globuline en partant de ce lait écrémé.

En un mot, par ces méthodes, nous pouvions obtenir les protéines suivantes à l'état de pureté (du moins théoriquement) :

A partir du sérum sanguin : I. — Le sérum albumine, protéine entièrement soluble dans l'eau distillée.

II. — La globuline, protéine insoluble dans l'eau distillée, les solutions salines neutres et les solutions acides même diluées, et solubles dans les alcalis.

Quant à la myxoprotéine : matière difficile à manipuler, ne pouvant l'isoler à l'état pur, nous n'avons pas étudié son action antigénique. (En effet, nos sérums contre l'albumine et la globuline agissaient de même façon sur la myscoprotéine). Son étude sera l'objet d'un travail ultérieur et nous envisagerons ici quelques particularités seulement de cette matière au point de vue de la fixation des anticorps précipitants.

Dans le lait : I. — La caséine préparée par la méthode des acides (méthode PORCHER) et que nous considérons comme un mélange de caséine et globuline (celle-ci est évidemment en très petite quantité).

II. — La caséine préparée par la présure, qui, elle aussi,

peut être considérée comme un mélange, mais contenant moins de globuline que la caséine acide.

III. — Les produits de l'action de la présure sur la caséine, acide dissoute dans une solution de soude.

IV. — La lactalbumine préparée par la méthode à l'acétone, qui, seule, peut être considérée comme une protéine pure.

V. — Etant donné les difficultés de la préparation de la lactoglobuline, à l'état pur, nous avons étudié son action, en injectant le lactosérum, préparé par l'action de la présure, complètement clarifié par des filtrations et centrifugations répétées après avoir saturé la solution avec de l'éther.

LA REACTION DE PRECIPITATION

Après avoir fait de multiples essais par les diverses techniques de la réaction de précipitation, nous avons choisi pour les examens décrits dans ce travail, soit la méthode de superposition ou méthode zonale, soit cette méthode modifiée par NICOLLE.

La méthode zonale consiste à placer 1/2 cc. environ de la solution diluée d'antigène dans un tube à précipitation (tube de 0,5 cm. de diamètre). L'antisérum est aspiré dans une pipette capillaire, sorte de petite ampoule de 1/10 à 2/10 cc., longuement effilée à une extrémité et introduite au fond du tube.

L'antisérum, plus dense que la solution d'antigène, prend la place de celle-ci au fond du tube sans se mélanger et en formant une surface de séparation bien nette. Lorsque la réaction est positive, on voit apparaître bientôt au niveau de la séparation un anneau de précipitation plus ou moins opaque. Pour une dilution donnée de l'antigène, la rapidité et l'intensité de la réaction dépendent de la valeur de l'antisérum. Les réactions

caractéristiques apparaissent au bout d'une à vingt minutes, le précipité de séparation disparaît au bout d'une demi-heure à une heure et les deux liquides se mélangent.

Dans toutes nos expériences nous avons employé plusieurs tubes témoins, soit avec un autre antigène, soit avec un sérum normal de lapin pour éviter les erreurs dues parfois à des réactions chimiques ou à des impuretés existant au fond du tube, mais ces pseudo-réactions sont toujours immédiates et persistantes.

Dans la technique modifiée par NICOLLE, on mélange à volume égal de l'antisérum et de la gélatine, qu'on met en solution à 10 % dans l'eau physiologique. On s'assure de la neutralité de cette solution à l'aide de papier de tournesol et on la répartit en tubes (1 à 2 cc. par tube). On laisse prendre les tubes dans la glacière et on superpose, au culot solidifié des quantités décroissantes d'antigène en solution. Dans ces réactions, nous nous servons toujours, comme témoins, de tubes préparés avec la même solution de gélatine sans antisérum.

NICOLLE a employé cette méthode surtout pour le titrage des anticorps en mettant une quantité fixe de l'antigène dans la gélatine et en faisant agir des dilutions décroissantes d'antisérum.

PREPARATION DES ANTISERUMS SUR LES LAPINS

Avant toute injection, nous avons recueilli quelques cc. de sang sur nos lapins à la veine auriculaire et nous avons mis le sérum en présence des antigènes que nous avions à étudier pour nous assurer que le sérum neuf n'avait pas de pouvoir précipitant.

Nous avons fait trois injections d'antigène à chaque sujet, pratiquées dans la veine auriculaire, soit pendant trois jours successifs (méthode employée par NICOLLE), soit à trois jours

d'intervalle. Dans ce dernier cas, par mesure de précaution contre une sensibilisation éventuelle, les lapins recevaient une injection sous-cutanée d'une faible quantité d'antigène (environ 1 cc. de solution), deux heures avant l'injection intraveineuse.

Les saignées pour l'obtention du sérum furent pratiquées environ une semaine après la dernière injection. Toutes ces expériences ont été effectuées au Laboratoire des Recherches du Ministère d'Agriculture.

OBSERVATIONS PERSONNELLES

Tout d'abord, nous signalons la première de nos expériences, faite sur une matière organique, en 1929, alors que nous n'avions pas encore envisagé la séparation des protéines.

Nous avons été très heureux de trouver à la clinique de l'Ecole d'Alfort, une vieille jument âgée de 20 ans environ, et qui avait accouchée depuis quatre jours d'un poulain mort-né. Chez cette jument, le lait était remplacé par un produit gluant, d'aspect très différent du lait normal. L'examen bactériologique ne décéla aucun germe pathogène.

Ce produit présentait les caractères physico-chimiques suivants :

Solution gluante, claire, non purulente, de couleur légèrement jaunâtre, traversant entièrement le papier-filtre après dilutions dans l'eau ; coagulable par la chaleur, précipitant en présence d'acide acétique et de sulfate de magnésie à saturation.

A chaud, l'excès de ClNa donne un précipité abondant, mais le précipité provoqué par l'acide acétique est soluble dans une solution saturée de ClNa . En filtrant le précipité obtenu par le So^4MY , en présence du même sel, le filtrat clair se coagule par la chaleur, précipite abondamment par le réactif de TANRET.

Le filtrat donne un très léger précipité en présence de quelques gouttes d'acide acétique normal.

Avant et après défécation par l'acide trichloracétique, ne réduit pas la liqueur de FEHLING et ne donne pas de réaction avec la phenylhydrazine.

Enfin, nous avons trouvé du phosphore à l'état de traces, mais pas d'acide citrique.

En un mot, un examen chimique de ce produit montre la disparition presque complète de tous les produits d'élaboration des glandes mammaires : caséine, lactose, acide citrique. D'ailleurs, étant donné l'âge avancé et l'état déficient de toutes les fonctions physiologiques du sujet, cela ne pouvait guère nous étonner.

Nous avons examiné l'activité antigénique de ce produit vis-à-vis du lait et du sang.

Examen sérologique

L'antisérum de cheval donne une réaction nette et caractéristique en présence d'une solution à 1/1000 de cet antigène. Deux lapins ont reçu quatre injections de cet antigène par la voie sous-cutanée, à trois jours d'intervalle.

L'antisérum de ces deux lapins précipite fortement :

- 1° la solution 1/1000 de sérum de cheval ;
- 2° la solution de 1/1000 de l'antigène (nous n'avons pas cherché à voir la limite de précipitation) ;
- 3° la solution de 1/200 du lait de jument.

Mais ils ne donnent aucune réaction avec les sérums de chien, de bœuf, de porc, les laits de vache et chèvre, même à des solutions de 1/100.

Lapin N° 26

Antigène. — Solution d'albumine de sérum de bœuf recueilli à l'abattoir de Vaugirard, conservé pendant un an : quelques jours à la température du laboratoire, puis à 0°. Comme nous ne disposions que d'une faible quantité de solution, nous avons ajouté sur une moitié de celle-ci une petite quantité de cristaux d'albumine de bœuf préparée en même temps par la méthode à l'acétone (le reste de la solution nous a servi à des réactions sérologiques). Nous avons préparé ces deux échantillons au laboratoire de M. PIETTRE.

17 août : 1^{re} injection intra-veineuse 5 cc. de solution correspondant à l'albumine contenue dans 5 cc. de sérum bœuf.

20 août : 2^e injection, 8 cc. de la même solution.

23 — 3^e — — — —

31 — le lapin a été saigné par ponction cardiaque.

Ces injections n'ont produit aucun trouble, ni amaigrissement appréciable sur le lapin.

Résultats de la réaction de précipitation

Antigène correspondant à l'antisérum : réaction positive à	1/10000
Sérum de bœuf — — — —	1/10000
— cheval — — — fortém. —	1/10000
Alb. de sérum de bœuf cristallisée : réaction positive à.....	1/50000
— de cheval — — — —	1/50000
Globuline bœuf cristallisée : réaction négative	1/1000
— cheval — — — —	1/1000

De ces résultats, nous pouvons déduire que notre sérum, préparé avec de l'albumine de bœuf, est spécifique de l'albumine, puisqu'il n'a aucune action sur la globuline. Il semble donc que l'albumine et la globuline soient deux antigènes différents.

Mais contrairement à ce que nous étions en droit d'espérer, le sérum du lapin 26 ne possède pas la spécificité zoologique puisqu'il agit aussi bien en présence du sérum albumine de cheval, que du sérum albumine de bœuf. Faudrait-il donc supposer que l'albumine de cheval et de bœuf sont identiques ? c'est ce que nous avons essayé de rechercher.

Nous avons ajouté à notre antisérum quelques cristaux d'albumine de bœuf. Il se produisit un précipité abondant (1). Le lendemain, nous mettons une partie du liquide surnageant, en présence de sérum de bœuf à 1/1000, 1/500 et 1/100. Nous n'obtenons aucun précipité.

Par contre, ce même liquide donne une réaction de précipitation au 1/1000 avec le sérum de cheval.

(1) Qui se dépose après quelques heures au fond du tube en laissant un sérum surnageant entièrement clair.

En faisant l'expérience inverse, c'est-à-dire, en saturant l'antisérum 26 avec le sérum de cheval, on voit que le liquide surnageant, inactif en présence d'une solution de sérum cheval donne une réaction positive à 1/1000 avec une solution d'albumine de bœuf.

Ces expériences nous permettent donc d'affirmer que notre antisérum renfermait deux anticorps distincts : anticorps albumine bœuf et anticorps albumine cheval et que, par conséquent, l'albumine de bœuf et de cheval sont deux antigènes différents.

Poursuivant l'expérience, nous saturons l'antisérum 26, avec la solution d'albumine bœuf, conservée un an et qui nous a servi, mélangée à des cristaux d'albumine bœuf, à préparer notre lapin. Nous obtenons une forte réaction de précipitation. Le liquide surnageant, une heure après, précipite légèrement le sérum de bœuf et donne une réaction plus légère avec le sérum de cheval. Après plusieurs jours de contact, le sérum perd toute son activité envers le sérum de cheval, mais reste légèrement actif en présence du sérum de bœuf.

Notre solution d'albumine contenait donc des antigènes albumine bœuf et albumine cheval. (Ce qui explique la présence d'anticorps correspondants). La dernière partie de l'expérience nous montre que le contact prolongé entre l'antigène et l'antisérum fait disparaître les anticorps antialbumine cheval.

Nous avons essayé l'action de cet antisérum vis-à-vis des sérums et des laits des autres espèces. Nous avons eu les résultats suivants :

Antisérum. lapin 26	+	solution 1/100	—	1/1000 sérum de l'homme	r. négat.
—	—	+	—	1/100 lait de femme,	réact. négative.
—	—	+	—	1/100 — 1/1000 sér. de porc,	réact. nég.
—	—	+	—	1/100 lait de vache,	réact. posit.
—	—	+	—	1/100 lactosérum (présure),	réact. posit.
—	—	+	—	1/50000 cristaux alb. lait de vache,	r. posit.
—	—	+	—	de poudre de caséine, lait de vache à 1/1000,	réaction négative.

Nous avons fait les mêmes réactions avec la méthode de NICOLLE et les résultats obtenus ont été entièrement concordants.

Lapins N^{os} 61- et 66

Antigène. — Albumine de sérum bœuf recueilli à l'abattoir de La Villette et préparé à l'état cristallisé par la méthode à l'acétone dans le service de chimie du Laboratoire des Recherches.

22 septembre : 1^{re} injection intra-veineuse : 1 cgr. de cristaux d'albumine (ce qui correspond à l'albumine contenue dans 3 cc. de sérum de bœuf) en solution physiologique à chacun des deux lapins.

23 septembre : 2^e injection intra-veineuse : 1 cgr. du même produit.

24 septembre : 3^e injection intra-veineuse : 1 cgr. du même produit.

30 septembre : (1^{re} saignée). Sur chacun de ces deux lapins, on prélève 10 cc. de sang par la veine auriculaire.

3 octobre : 2^e saignée par ponction cardiaque. Cette fois-ci la quantité de sérum est très fortement augmentée et nous obtenons après la centrifugation, un volume de sérum supérieur aux deux tiers du sang recueilli.

Résultats des réactions de précipitation

Un examen préliminaire nous montre que ces deux anti-sérums sont entièrement spécifiques du bœuf. En effet, ils ne donnent aucune réaction avec les sérums de l'homme, du cheval et du porc. Le titrage de l'activité de ces sérums par la méthode de superposition donne des réactions caractéristiques jusqu'à la dilution de 1/200000 avec des cristaux d'albumine bœuf et de 1/20000 avec le sérum frais de bœuf. Par la méthode de mélanges, la réaction est positive, avec des dilutions encore plus grandes.

En présence d'antigènes divers, nous avons obtenu les résultats suivants :

Caséine vache préparée par les acides, réaction négative à	1/100
Lactosérum vache préparé par la présure, réaction positive à	1/100
Lait écrémé, réaction négative à	1/1000
— — — positive à	1/100
Alb. crist. de lait de vache, réaction positive à plus de	1/100000
Globuline crist..sérum de bœuf, réaction positive, mais lente à ..	1/1000
— — — — apparaît au bout de 10-15 m. à	1/20000

Ces expériences semblent nous montrer, d'un côté que l'albumine du lait de vache et celle du sang de bœuf sont entièrement identiques et différentes, dans leur constitution antigénique, de celle des autres espèces. D'autre part, il y aurait d'après les résultats, une certaine parenté entre l'albumine et la globuline du sang, chez une même espèce ; étant donné l'activité spécifique de l'antisérum 26 sur l'albumine, nous pouvons supposer que l'antigène injecté aux lapins 61 et 66 n'était pas suffisamment purifié, et contenait, sans doute, de la globuline.

Enfin, signalons ici que nous avons mis la solution d'albumine, qui nous avait servi à préparer le lapin 26 en présence de ces antisérums. Nous avons obtenu des réactions nettes, mais, cette solution, conservée pendant deux mois à la température de laboratoire, ne précipite plus ces antisérums,.

Remarque : Nous avons pu déceler par les antisérums 61 et 66, la présence de viande de bœuf dans une macération de viande de conserve stérilisée. Ces réactions, quoique légères, ont été caractéristiques.

Lapin N° 40

Antigène. — Albumine cristallisée de sérum de cheval (recueilli sur les chevaux militaires du 32^e régiment d'artillerie), préparée par la méthode à l'acétone au Laboratoire des recherches.

3 septembre : 1^{re} injection 2 cgr. d'albumine cristallisée en solution physiologique.

6 septembre : 2^e injection 2 cgr. 5 de la même albumine.

9 septembre : 3^e injection 2 cgr. 5 de la même albumine.

Ce lapin présente de très fortes réactions locales et générales à la suite de la deuxième injection et de la troisième (escharre sèche

de la peau de l'oreille à l'endroit de l'injection, érythèmes cutanés sur tout le corps, très mauvais état général).

17 septembre : La ponction cardiaque de ce lapin nous donne un sérum sans activité appréciable sur l'antigène injecté. Ce sérum ne figure pas dans nos expériences de précipitation.

Lapins N^{os} 47 et 69

Antigène. — Le même que dans l'expérience précédente.

27 septembre : 1^{re} injection intra-veineuse 1 cgr. 25 d'albumine cristallisée de cheval en solution physiologique.

28 septembre : 2^e injection intra-veineuse 1 cgr. 25 du même produit à chacun des deux lapins.

29 septembre : 3^e injection intra-veineuse 1 cgr. 25 du même produit à chacun des deux lapins.

7 octobre : Par ponction cardiaque, nous avons recueilli 45 cc. de sang sur chacun des deux lapins.

13 octobre : Le lapin 47 a été saigné à blanc par la voie carotidienne ; on a fait suivre la saignée d'une trachéotomie pour obtenir plus de sang. Nous avons recueilli 130 cc. de sang, lequel après la coagulation à la température du laboratoire nous permet de séparer 85 cc. de sérum entièrement clair, c'est-à-dire les deux tiers du sang entier comme nous l'avons signalé pour le lapin 61, tandis qu'à la première saignée nous obtenons rarement un volume de sérum égal à la moitié de volume de sang.

Résultats des réactions de précipitation

Le titrage de ces deux antisérums nous montre qu'ils sont moins actifs que ceux obtenus à partir des lapins 61 et 66. En effet, ces antisérums ne donnent que des réactions très faibles à des dilutions supérieures, de 1/50000 d'albumine cristallisée de sérum de cheval et 1/5000 de sérum frais de la même espèce.

Ces antisérums ne donnent aucune réaction, soit sur les protéines mélangées ou isolées du sérum et du lait d'espèce humaine et bovine, et du sérum de porc.

Signalons enfin que ces antisérums précipitent toujours la solution, conservée à la glacière d'albumine de bœuf (employée

pour le lapin 26) même après deux mois de conservation à la température du laboratoire.

Lapin N° 70

Antigène. — Globuline de bœuf préparée par la méthode à l'acétone, à partir du sérum signalé dans la troisième expérience. Cet antigène a été injecté aussitôt purifié, mais avant la cristallisation.

21 août : 1^{re} injection intra-veineuse 6 cc. de solution très légèrement alcaline de globuline de bœuf (correspondant à 5 cc. de sérum de bœuf).

24 août : 2^e injection intra-veineuse 10 cc. du même produit.

27 — 3^e — — — 12 — —

3 septembre : Ce lapin a été saigné par ponction cardiaque.

Résultats des réactions de précipitation

Le titrage de ce sérum effectué en présence de sérum frais de bœuf nous donne une réaction positive à 1/15000. L'antisérum est entièrement spécifique du bœuf, il précipite même les produits de macération de viandes de conserve de bœuf stérilisées avec plus d'intensité que celles des lapins 61 et 66.

Il ne donne aucune réaction avec les protéines pures, ni avec les sérums de cheval, de porc et d'homme, ni avec le lait de femme, de jument et de chèvre. Cet antisérum n'est pas entièrement spécifique de la globuline bœuf, car il précipite l'albumine du sérum de bœuf.

En mettant notre sérum en présence de solution à 1/15000 des cristaux d'albumine et globuline de bœuf, le précipité avec la deuxième apparaît au bout de deux minutes de contact, tandis qu'avec la première, il ne se produit qu'une réaction faible, mais caractéristique, après six minutes.

Toutefois, ces considérations ne sont que relatives et nous dirons simplement que cet antisérum précipite les deux protéines du sérum de bœuf, car le degré de solubilité et la dis-

persion de l'albumine et de la globuline dans nos solutions ne sont pas entièrement comparables.

Il ne donne aucune réaction avec la solution de caséine à 1/200 portée pendant dix minutes à 100°, mais il précipite une solution au 1/200 de lactosérum et de lait frais de vache.

Nous devons signaler, qu'en effet, les cristaux de globuline qui nous ont servi à la préparation de ce sérum ne doivent pas être entièrement débarrassés des autres protéines du sérum. En effet, la couleur de ces cristaux est légèrement rosée et transparente, tandis que dans les préparations plus pures, ces cristaux ont une couleur gris terne.

Un autre fait intéressant : cet antisérum saturé d'albumine de bœuf précipite encore le sang et la globuline de bœuf.

Lapin N° 29

Antigène. — Globuline de sérum de cheval signalé dans la quatrième expérience. Cet antigène a été injecté aussitôt après la purification, c'est-à-dire avant la cristallisation.

2 septembre : 1^{re} injection intra-veineuse, 8 cc. de solution très légèrement alcaline de globuline de sérum cheval (correspondant à 5 cc. de sérum).

5 septembre : Même opération.

8 septembre : 3^e injection intra-veineuse, 1 cgr. 5 des cristaux de la même globuline dissoute dans 8 cc. d'eau physiologique augmentés de 0, 5 cc. de NA OH —

N

20

16 septembre : Saignée par ponction cardiaque.

Résultats des réactions de précipitation

Cet antisérum est actif jusqu'à la dilution de 1/15000 de sérum frais de cheval.

Cet antisérum est entièrement spécifique. En effet, il précipite seulement le sérum globuline et le sang de cheval, il ne

donne aucune réaction en présence de sérum ou des protéines du sérum du bœuf, de l'homme, du porc, du mouton.

Mis en présence des solutions à 1/20000 et à 1/30000 des cristaux d'albumine de cheval, nous ne trouvons aucune réaction même en observant pendant dix-huit minutes (notre solution à 1/20000 de cristaux d'albumine correspond à peu près à l'albumine contenue dans une solution à 1/500 de sérum frais de cheval), ce qui confirme une fois de plus, que la globuline et l'albumine sont deux entités antigéniques entièrement distinctes (ces cristaux de globuline de cheval ont un aspect et une couleur sensiblement plus ternes que ceux de bœuf employés dans l'expérience du lapin 70).

Cet antisérum précipite d'une façon caractéristique les produits de la macération des conserves stérilisées de viande de cheval. Cet essai a été fait en même temps et avec le même résultat avec l'antisérum préparé dans le laboratoire de M. NICOLAS à partir de sérum frais de cheval, avec nos antisérums des lapins 47 et 69 et avec les antisérums bœuf préparés par les antigènes correspondants ; mais, les réactions avec les antisérums globuline sont plus intenses qu'avec les antisérums albumine ou les antisérums de sérum frais.

En dernier, nous avons utilisé des antisérums préparés au laboratoire de M. le Professeur NICOLAS, par trois injections sous-cutanées à trois jours d'intervalle de sérum de bœuf, de cheval et de porc.

Ces antisérums précipitent légèrement à une dilution inférieure à 1/100, le lait ou le lactosérum d'espèce correspondante, ainsi que la solution de cristaux de lactalbumine.

Antisérums préparés à partir des protéides du lait

Lapins N^{os} 65 et 72

Antigène. — Caséine vache (préparée par la méthode de PORCHER, à Lyon), 1 gr. de cette caséine laissée quelques heures en contact de

N
2 cc. de soude $\frac{\text{N}}{30}$ est broyée dans un mortier pour obtenir une solution opalescente que nous avons portée à 30 cc. par une solution physiologique contenant une légère quantité de soude, la solution ainsi obtenue a une alcalinité inférieure à $\frac{\text{N}}{200}$ Cette solution

traverse le filtre en papier en laissant une petite quantité de caséine non dissoute. Nous avons chauffé cette solution au bain-marie à ébullition pendant dix minutes pour détruire autant que possible les globulines qui ont pu accompagner les caséines dans les précipitations acides. Cette solution est filtrée une deuxième fois sur un linge stérile.

5 octobre : 1^{re} injection intra-veineuse 5 cc. de la solution ainsi préparée à chacun des lapins.

6 octobre : 2^e injection intra-veineuse 5 cc. de la solution ainsi préparée à chacun des lapins.

7 octobre : Le lapin 65 a reçu 1 cgr. 5 de caséine préparée comme précédemment, mais non chauffée en injection intra-veineuse.

Le sujet 72 a reçu 2 cgr. de caséine en solution préparée extemporanément et chauffée à 100°. La solution n'est pas homogène, la caséine n'a pas été entièrement dissoute.

12 octobre : Le lapin 72 présente un état général très grave, nous l'avons saigné à la veine auriculaire pour obtenir 2 cc. de sérum qui est entièrement inactif. Le sujet meurt deux heures après.

15 octobre : La ponction cardiaque du lapin 65 nous donne 45 cc. de sang, mais le sérum est entièrement inactif vis-à-vis du lait et même de l'antigène injecté.

Ce sérum n'a donc pas été utilisé dans nos réactions de précipitation.

Lapins N^{os} 42 et 56

Antigène. — Caséine de vache. La même que dans l'expérience précédente, la solution est préparée une fois pour toutes les injections et chauffée dix minutes à l'ébullition, la solution est filtrée sur papier-filtre ordinaire.

9 novembre : 1^{re} injection intra-veineuse 4 cc. de la solution correspondant à 1 cgr. 5 de la caséine.

10 novembre : 2^e injection intra-veineuse 4 cc. de la solution correspondant à 1 cgr. 5 de la caséine.

11 novembre : 3^e injection intra-veineuse 4 cc. de la solution correspondant à 1 cgr. 5 de la caséine.

20 novembre : Le lapin 56 a été saigné par ponction cardiaque et le lapin 42 par ponction de la jugulaire.

Comme nous l'avons signalé plus haut, ces lapins ont été traités exactement de la même façon, mais parmi les quatre sujets, c'est seulement le lapin 56 qui nous a donné un sérum actif vis-à-vis de la caséine.

Réactions de précipitation

Seul le sérum du lapin 56 a une légère action précipitante vis-à-vis des solutions à 1/1000 de caséine et à 1/100 de lait frais de vache. Ce sérum donne une réaction très légère avec le lait de jument et de femme.

Le fait que ces réactions sont légères peut être expliqué par l'insuffisance du nombre des injections au lapin. Nous pensons que peut-être trois injections successives ne sont pas suffisantes pour la production d'antisérum plus actif. Toutefois, ce sérum 56 ne précipite ni le sérum de bœuf ni les protéines purifiées de ce sérum et du lait de vache.

Lapins N^{os} 50 et 41

Antigène. — Solution d'albumine de lait de vache (non stérilisée) préparée par la méthode de l'acétone au laboratoire des recherches. Cette solution contient 4 p. 1000 de lactalbumine cristallisée.

7 novembre : 1^{re} injection intra-veineuse de 4 cc. de la solution à chacun des lapins.

8 novembre : 2^e injection intra-veineuse de 4 cc. de la solution à chacun des lapins.

9 novembre : 3^e injection intra-veineuse de 4 cc. de la solution à chacun des lapins.

18 novembre : Ces deux lapins sont saignés par ponction cardiaque.

Réactions de précipitation

Ces antisérums précipitent les solutions de cristaux d'antigène à 1/50000.

Voici les résultats obtenus avec ces antisérums mis en présence de :

Solution de lactalbumine cristallisée à 1/50000	Réaction positive
Sérum de bœuf 1/1000	—
Lactosérum vache 1/100	—
Caséine acide (PORCHER)	Réaction douteuse
Ensemble des protéines du lait de chèvre	Réaction négative
Sérum de cheval à 1/100	—
Albumine cristallisée de sérum de bœuf à 1/30000....	Réaction positive

Si nous mettons, en présence des mêmes dilutions d'albumine cristallisée de sérum et de lait de vache, les antisérums 50, 41 et 61, 66, nous observons que les réactions obtenues avec 61 et 66 sont plus rapides, mais qu'au bout de quelques minutes, l'intensité de toutes les réactions est la même.

Par conséquent, il semble que, bien que l'activité de 61 et 66 soit inférieure à celle de 50 et 41, leurs qualités antigéniques soient semblables.

Poussant plus loin nos expériences, nous avons saturé quelques cc. de l'antisérum 50 par de l'albumine de lait de vache et nous avons observé que le liquide surnageant perd entièrement son activité vis-à-vis du sang et du lait de vache et inversement, que ce sérum saturé d'albumine cristallisée de sérum ou de sérum frais de bœuf ne précipite plus le lait ni le sang.

Il nous semble ressortir de ces expériences que l'albumine du lait et du sang sont au point de vue antigénique entièrement semblables mais qu'elles diffèrent de la caséine et des globulines de même espèce.

Fait intéressant : la caséine acide préparée par la méthode de PORCHER, soumise ensuite à l'action de la présure, donne des produits précipitables par ces antisérums.

Par conséquent, nous voyons que les produits de dégradation résultant de l'action de la présure sur la caséine, laquelle est inactive sur les antisérums 50 et 41, précipitent ces mêmes antisérums. Ceci confirme, une fois de plus, l'opinion émise par PORCHER et MUFFET, à savoir que la caséine peut donner naissance par dégradation à des substances voisines des albumines du lait et du sang.

Lapin N° 28

Antigène. — Lactosérum obtenu par l'action de la présure. Ce lapin a subi le 5 octobre une injection intra-veineuse de caséine.

9 novembre : Injection de 2 cc. de lactosérum.

A notre grande surprise, ce lapin présente des symptômes caractéristiques du choc anaphylactique et meurt subitement quelques minutes après l'injection.

Nous avons commencé une série d'expériences sur la production de choc anaphylactique (passif et actif chez les cobayes) pour la différenciation de ces protéines. Ces expériences n'étant pas encore terminées, elles feront l'objet d'un travail spécial.

Lapins N°s 30 et 62

Antigène. — Lactosérum préparé par l'action de la présure, le même que dans l'expérience précédente.

8 novembre : 1^{re} injection de 5 cc. de lactosérum au lapin 62.

9 novembre : Injection de 5 cc. de lactosérum à chacun des lapins 62 et 30.

10 novembre : Injection de 5 cc. de lactosérum à chacun des lapins 62 et 30.

11 novembre : Injection de 5 cc. de lactosérum au lapin 30.

Ces deux lapins ont été saignés par voie cardiaque le 19 novembre.

Réactions de précipitation

Ces antisérums précipitent fortement le lactosérum à 1/100, le sérum de bœuf à 1/1000 et l'albumine cristallisée du lait et du sang à 1/40000.

Ils ne donnent aucune réaction avec les sérums de cheval et de porc, ni avec le lait de chèvre, de jument et de femme.

Ces antisérums ne précipitent pas une solution de caséine à 1/1000 chauffée à l'ébullition au bain-marie pendant dix minutes environ.

Ils donnent une réaction positive avec les produits solubles résultant de l'action de la présure sur la caséine.

ROLE DES MYXOPROTEINES ET DES ELECTROLYTES DANS LES PHENOMENES DE PRECIPITATION

Ayant une quantité assez considérable de sérum du lapin 47, nous avons cherché à savoir quelle est la partie des antisérums qui jouit du pouvoir précipitant.

L'action de l'éther et de l'acétone à 0° ne fait pas disparaître les anticorps précipitants. Le précipité de protéine, obtenu après quatre lavages à l'acétone et quatre à l'éther, redissous dans un volume d'eau égal à celui de l'antisérum primitif, nous donne, après centrifugation, une solution claire qui possède un pouvoir précipitant sensiblement égal à celui du sérum primitif.

Après avoir séparé les protéines (méthode de PIETTRE), nous avons observé que la globuline seule ou dissoute dans le sérum normal de lapin n'a aucune action précipitante.

L'albumine (après cinq précipitations par l'acétone) peut être considérée comme pure ; étant donné la faible densité de cette solution et sa facilité de dispersion dans la solution d'antigène, nous ne pouvons pas utiliser directement la technique de superposition. Cela devient possible en mélangeant cette solution avec du sérum normal de lapin ou de toute autre espèce animale. On voit alors qu'elle ne précipite pas le sérum de cheval.

Nous remarquons que la quantité totale de myxoprotéine de

notre sérum est très fortement augmentée ; en effet, elle est à peu près égale à celle de l'albumine, tandis que dans le sérum normal, elle ne dépasse pas le $1/5^{\circ}$ de celle-ci. Chacune des fractions de myxoprotéine, obtenue à chaque précipitation par l'acétone, conserve, après quatre lavages à l'eau distillée, une forte activité précipitante en présence d'une solution au $1/1000$ de sérum de cheval.

Ces myxoprotéines, portées, par addition d'eau physiologique au volume du sérum primitif, précipitent spécifiquement le sérum et l'albumine de cheval à un titre à peu près comparable à celui du sérum primitif.

Ces expériences semblent montrer : que dans l'organisme, les réactions antigéniques agissent sur la constitution chimique des éléments du sérum. C'est ainsi que l'on constate l'augmentation des protéines insolubles dans l'eau distillée et solubles dans la solution physiologique, protéines que PIETTRE appelle myxoprotéine.

PIETTRE a observé que la quantité des myxoprotéines minime dans le sérum des animaux sains et jeunes, augmente d'une façon considérable chez les sujets ayant subi des maladies diverses.

Enfin, les travaux de LECOMTE DU NOUY mettent en lumière la transformation chimique provoquée dans le sérum par les réactions antigéniques, en mesurant la tension superficielle et la viscosité de ces sérums.

En outre, les anticorps, du moins les précipitines, paraîtraient fixés sur les mixoprotéines, puisque les autres protéines isolées sont inactives. Mais nous devons signaler que la myxoprotéine peut être difficilement considérée comme entité antigénique distincte.

Ensuite, nous avons cherché à savoir quel est le rôle des électrolytes dans les phénomènes de précipitation. Nous avons mis en solution dans l'eau distillée, les précipités de protéines obtenus après quatre précipitations acétoniques et quatre

lavages à l'éther. D'après PIETTRE, cette solution (de l'anti-sérum 47) a perdu la plus grande partie de ses matières minérales et surtout la presque totalité du CL-NA ; il reste, néanmoins, une faible quantité des carbonates alcalins qui permettent la dispersion des protéines insolubles dans l'eau distillée. En tout cas, cette quantité n'est pas comparable à celle du sérum primitif.

Notre solution de protéines donne une réaction de précipitation zonale spécifique en présence d'albumine de cheval en solution dans l'eau distillée, mais il ne se produit aucune réaction spécifique avec l'eau distillée seule ou avec une solution d'albumine de bœuf.

Les expériences faites sur la solution de myxoprotéine contenant la quantité de NA CL juste nécessaire pour sa dissolution, donnent les mêmes réactions spécifiques avec la solution d'albumine dissoute dans l'eau distillée.

Il semble, donc, que si les électrolytes jouent un rôle important dans les phénomènes de dispersion et production des pseudo-solutions de protéines, ils ne jouent aucun rôle dans les phénomènes spécifiques de la réaction de précipitation.

CONCLUSIONS

Les procédés physico-chimiques n'ont pas réussi à éclairer parfaitement la composition des matières protéiques. Il faut les combiner aux méthodes d'immunologie.

Nombreuses sont les manifestations de la spécificité chez les êtres vivants : les réactions immunologiques qui aboutissent à la production des anticorps sont un cas particulier de ces manifestations.

On peut diviser leurs études en trois chapitres : antigènes, anticorps, réactions antigènes-anticorps.

L'antigène introduit dans l'organisme sous certaines conditions résiste aux agents normaux de la défense organique, jusqu'à la production des agents spécifiques : les anticorps.

Les caractères physico-chimiques essentiels des antigènes sont les suivants : substances étrangères, solubilisables, à grosse molécule, contenant des radicaux aromatiques possédant une activité optique et capables d'opposer une certaine résistance aux agents normaux de la défense organique.

La plupart des antigènes sont des protéides. L'activité antigénique des matières grasses à l'état pur n'est pas démontrée.

Tous les antigènes capables de produire des anticorps réagissent avec ces anticorps. Mais d'autres substances incapables de produire ces anticorps peuvent néanmoins réagir avec ces anticorps de la même façon que les antigènes.

La partie active de ces substances diverses est constituée par quelques groupements atomiques fixés d'une façon particulière sur le reste de la molécule protéique qui n'a qu'un rôle de support et d'ailleurs les molécules protéiques débarrassées de ces groupements perdent leur activité antigénique.

Les travaux antérieurs s'accordent à montrer que la globuline et l'albumine se retrouvent avec les mêmes caractères antigéniques dans le lait, le colostrum et le sérum sanguin de même espèce, tandis que la caséine est un antigène commun à toutes les espèces.

La méthode à l'acétone, au moins théoriquement, est la seule qui permette une séparation des diverses protéines du sérum. Il ne nous paraît pas exister de méthode absolument certaine permettant de séparer rigoureusement la caséine et la globuline du lait.

Il est possible d'obtenir la lactalbumine à l'état pur. Il semble que l'albumine et la globuline du sérum soient deux entités antigéniques différentes.

L'albumine et la globuline du sang et du lait ont les mêmes caractères antigéniques.

L'activité antigénique de la caséine s'est montrée faible dans nos expériences, et différente de celle de l'albumine. L'action de la présure lui donne une activité semblable. La composition des protéines du sérum sanguin est modifiée au cours des réactions immunologiques : cette modification réside dans l'augmentation des myxoprotéines qui sont le support des précipitines.

Les électrolytes ne nous paraissent pas jouer un rôle dans la réaction spécifique de précipitation.

Vu : POUR LE DOYEN :
BALTHAZARD.

Vu : LE PRÉSIDENT DE THÈSE :
BINET.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris :
CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

- ABDERHALDEN (E.). — *Zeit. Physiol. Chem.*, 1903 (37), 495, 1905 (44) 17.
 — et ROSSNER. — *Zeit für physiol. chem.*, 1927, 168, 171.
- ACHARD (Ch.) et ARCAND. — *C. R. Ac. des Sc.*, 1929, t. 189, p. 510.
 — et BOUTARIC. — *C. R. Ac. des Sc.*, 1931, 192, 1611.
- ADANT (M.). — *C. R. des S. de Soc. Biol.*, 1932, 29 oct., p. 671.
- ANGHELOFF et KATRANJIEFF. — *Vol. jubilaire*, édité en l'honneur du Professeur PORCHER, pp. 3-15.
- ARCAND (A.). — *Les protéines des humeurs. Thèse doct. pharm.*, 1930, FRANÇOIS, Paris.
- AVERY (O.-T.) et DUBOS (R.). — *J. Exp. Méd.*, 1931, 54, 51 et 73.
 — et GOEBEL (W.-F.). — *J. Exp. Méd.*, 1931, 54, 431 et 437.
 — et HEIDELBERGER (M.). — *J. Exp. Méd.*, 1923, 38, 73, *J. Stat. Méd.*, 1920-28, 293.
- BABER (F.-H.) et GOEBEL. — *J. Biol. Chem.*, 1930, 89, 387.
- BARRON et LANDSTEINER. — *Z. Immunität.*, 1917, 26, 142.
- BAUER (J.) et ENGEL (S.). — *Biochem. Zeit.*, 1911, 31, 46, 1912, 42, 399.
- BERNÉ (A.) et MARTINY (M.) et PRETET (H.). — *La spécificité biologique*, 1932, MASSON, Paris.
- BERGER (H.). — *Centralb. f. Bakt. Orig. Bd.*, 1926, 911, 519.
- BERT (P.). — *C. R. Ac. des Sc.*, mars 1884, p. 775.
- BEUMER. — *Biochem. Zeit.*, 1921, 121, 127.
- BORCIC. — *Biochem. Zeit.*, 1920, 100, 212.
- BORDET (J.). — *Traité de l'immunité*, MASSON, Paris, 1920.
 — *Traité de physiologie normal et pathologique*, publié sous la direction du Dr G.-H. ROGER, MASSON, Paris, 1926, t. iv.
 — *Ann. d'Inst. Past.*, 1899 et 1900 ; 1904, 18, 593, 1906, 20, 407.
- BOSWORTH et GIBLIN. — *The journ. of biological chemistry*, 1918.
 — et VAD SLYK. — *New-York Agric. exp. stat.*, déc. 1912, *Tchn. Bull.* N° 26.
- BOUTARIC. — *C. R. Ac. Sc.*, 1931, 192, 1611.
- BUJANOWSKAJA (I.) et JERNOLJEWA (Z.). — *Z. immunitat.*, 1930, 68, 342.
- CESARI (E.). — *Ann. Inst. Past.*, 1930, 44, 5, 34.
 — et NICOLLE. — Voir NICOLLE.
- CHRETIEN et PIETTRE. — Voir PIETTRE.
- CROWTHER et RAISTRICK. — *Biochem. journ.*, 1916, 10, 434.
- DAKIN. — *J. biol. chem.*, 1912, 13, 357, 1913, 15, 263-271.
- DALE et HARTLEY. — *Biochem. journ.*, 1916, 10, 408 et 431.
- DEAN. — *Brit. Med. journ.*, 1^{er} déc. 1923.

- DOERR. — *Ergeb. Hyg. Bakt. immunitats. u. exp. Ther.*, Berlin, 1922, 5, 137, *Klin. Woch.*, 1907, 20, 5.
- et BERGER. — *Zeit. f. Hyg.*, 1922, 96, 191.
- DUBOS (R.). — Voir AVERY.
- DUDLEY. — *Biochem. Journ.*, 1915, 9, 97.
- FLEISCHER. — *J. immunol.*, 1920, 5, 437, 1921, 6, 223. Roussky Wratsch, 1908 (7, pt. 2), 1638.
- FORSSMANN. — *Biochem. Zeit.*, 1911, 37, 78.
- FOURNIER (A.). — Les matières grasses du sang, Méthode de dosage, pp. 118-134, Paris, Vigot, 1915.
- FUJIWARD (K.). — *Dtsch. Ztschr. f. st. ges. gerichtl. med. Bd.*, 1, 1922, S, 562.
- GENGOU. — Sérums précipitants (in *Traité du sang*, de GILBERT, Weinberg, 1921. *Traité de l'immunité* de BORDET, Paris, 1920. *Ann. Inst. Past.*, 1902, 10, 734.
- GOEBEL (W.-F.). — Voir AVERY et BABER et HEIDELBERGER.
- GROSSER. — *Anat. Anzeiger*, 1920, 53, 49.
- HARTLEY. — *Biochem. Journ.*, 1914, 8, 541.
- HEIDELBERGER (M.). — *J. exp. Med.*, 1923, 38. *Ann. Rev. of Biochem.* (publié par Standford university presse California), immunochimistry, 1932.
- et GOEBEL (J.). — *Biol. chem.*, 1926, 70, 613 et 1927, 74, 613.
- et KENDAL (F.-E.). — *J. exp. Med.*, 1931, 54, 515.
- HEKTOEN. — *J. Amer. Med. Assoc.*, 1918, 70, 1273 ; 1921, 77, 32 ; 1922, 78, 704 ; *J. Infect. Dis.*, 1922, 31, 72.
- et SCHNLOF. — *J. Infect. Dis.*, 1922, 31, 32, 1924, 33, 433.
- JERNOLJEW. — Voir BUJANOWSKAJA.
- KAHN et MC. NEIL. — *J. immunol.*, 1918, 3, 277.
- KATO. — *Mitteil. Med. Fak. Univ. Tokyo*, 1917, 18, 195.
- KAUFMAN et MAGNE. — *C. R. Ac. Sc.*, 1906.
- KOLMER et TWISTE. — *J. Inf. Dis.*, 1916, 18, 20.
- LANDSTEINER. — *J. exp. Med.*, 1926, 42, 853, 863. *Biochem. Ztsch.*, 1918, 86, 343. 1920, 164, 280. *Ergeb. d. imunitatsfr.*, 1919, 93, 106.
- et JABLONS. — *Zeit. f. immunitat.*, 1914, 20, 618, 1914, 21, 193.
- et LEVENE. — *J. of immunol.*, 1925, 10, 731.
- et PRASEK. — *Biochem. Zeit.*, 1914, 61, 191. 1916, 74, 388.
- et SIMMS. — *J. Exp. Med.*, 1923, 38, 127.
- et VAN DER SCHEER. — *J. Exp. Med.*, 1924, 40, 91 ; 1932, 56, 399-409. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1930, 27, 812 ; 1931, 28, 983. *Z. Hyg. infektion Kraukh.*, 1931, 1, 113.
- LAMBLING. — *Précis de biochimie*, Paris, 1925.
- LEATHES. — *Univ. of Calif. Publication Path.*, 1912, 2, 39.
- LEBLANC. — *La Cellule*, 1901, 18, 335.
- LECOMTE DU NOUY. — *C. R. Ac. Sc.*, 1924, p. 904. *C. R. Soc. Path. Comp.*, 5 octobre 1932. *Ann. Inst. Past.*, 1928, t. 42, 742, 1929, t. 43, 743, 1930, t. 44, 251, 1931, t. 45, 742, 749, t. 46, 109, 251.

- Arch. Inst. Proph., t. iv, n° 1, 1932.
- LEVADITI et MUTERMILCH. — *An. Inst. Past.*, 1914, 27, 924.
- LEVENE. — *Zeit. f. immunitat.*, 1913, 16, 160. *J. Am. chem. soc.*, 1917, 39, 828.
- LOEB. — *The organism as. a inhole Putnam's*. Sons New-York, 1916. *Les protéines*, traduit par H. MOUTON. ALCAN, édit.
- MARTINY (M.). — Voir BERNÈS.
- MEYER. — *Z. immunitat*, 1910, 7, 732 ; 1911, 9, 530 ; 1931, 68, 98. *Biochem. Z.*, 1926, 178, 85.
- MONVOISIN (A.). — *Le lait et les produits dérivés*. VIGOT, Paris, 1925.
- MÜCHE. — *Beitr. Klin. d. Tuberk*, 1911, 20, 343. *Wirchow's Archiv.*, 1923, 246, 292.
- MUFFET. — Contribution à l'étude de la rétention lactée. *Thèse doct. Vét.*, Lyon, 1928.
- MULLER et TÖMESFIK. — *J. Exp. Méd.*, 1924, 40, 343.
- MUTERMILCH. — *An. Inst. Past.*, 1914, 27, 924.
- NEUBERG (C.) et OERTEL. — *Bioch. Zeitschr.*, 1914, 60, 491.
- NICOLAS (E.). — *C. R. Ac. Sc.*, 1928, 186, 1018. *Bulletin Soc. Cent. Méd. Vét.* 1902, *Rev. génn. de Méd. Vét.* 1903, *C. R. Soc. biol.*, 1928 t. 98, p. 184 ; 1905, 1310, 1312, 1932, t. 109, 1249. *Volume jubilaire*, en l'honneur du Professeur PORCHER, 1932, p. 451.
- et BONNAND. — *C. R. Soc. biol.*, 1931, p. 518.
- NICOLLE (M.). — *An. Inst. Past.*, 1907, 21, 26 ; 1906, 20, 225 et 962 ; 1908, 22, 237. *J. State Méd.*, 1920, 28, 293.
- et CESARI. — *Antigène-Anticorps*, MASSON, Paris, 1920. *Ann. Inst. Past.*, 1920, 34, 149 et 709.
- OBERMAYER et PICK. — *Wien Klin Woch*, 1906, 19, 327.
- et WILHEIM. — *Biochem. Zeit.*, 1912, 38, 331 ; 1913, 50, 369.
- OERTEL. — Voir NEUBERG.
- OSBORNE et WELLS. — *J. infect. Dis.*, 1921, 29, 200.
- PICK. — *Beitr. Chem. Physiol. u. Path.*, 1902, 1, 397.
- et KOLLE-WASSERMANN. — *Handbuch. der path. microorg.*, 1912, 1685.
- et SCHWARTZ. — *Biochem. Zeit.*, 1909, 15, 453.
- PIETTRE (M.). — *J. pharm. et Chim.*, 1926, 8^e série, t. III, 97, *C. R. Ac. Sc.*, 1911, 153, 137 et 782. *C. R. Ac. Sc.*, 1923, p. 333, 1928, 186, p. 1659, 1929, 2 décembre. *Arch. Inst. Vit. Brazil*, 1923, t. I, p. 1657 ; 1929, 2 décembre. *Arch. Inst. Vit. Brazil*, 1923, t. I, fas. 1 et t. II, fasc. 2.
- et VILA. — *C. R. Ac. Sc.*, 1920, 170, 1466 et 171, 372.
- et CHRÉTIEN. — *Biochimie de l'hémolyse* (Collection des trav. de path. comp., 1927). *Bulletin Ac. Méd.*, oct. 1924.
- PORCHER. — Le lait au point de vue colloïdal (*Thèse doct. de Lyons*, p. 75-79, 142-163 et 495. *Rec. Méd. Vét.*, 1931, t. CVII, N° 2, p. 656.
- RAISTRICK. — *Biochem. journ.*, 1916 (10), 434.

- RIMINGTON (Cl.). — Phosphorylation of protéine (*C. R. des Trav. du labarat.* Carlsberg, 1927, 17.
- SCHMIDT (W.). — *Ztsch. f. immunitatif*, Bd., 13, 1912, S, 166.
- TAPERNOUX (A.). — *Thèse Vét.*, Lyon.
- TANGHICHI. — *J. Path. and Bakt.*, 1921, 24, 122, 217, 256.
- THIÈLE et EMBELTON. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1917, 39, 828.
- TSEN. — *J. Med. Research.*, 1918, 37, 381.
- VAUGHAN (V.-C.). — *Protéine spleen*, Product., Philadelphie, 1913.
- VILA. — *C. R. Ac. Sc.*, 22 mai 1922.
- VARDEN. — *J. Infect. Dis.*, 1918, 22, 133 ; 23, 504 ; 1913, 24, 285. *J. Bact.* 1921, 6, 103.
- WELLS (H.). — *J. Biol. Chem.*, 1916, 28, 11. *J. infect. Dis.*, 1909, 650, 1911, 9, 47 et 147.
- *Les aspects chimiques de l'immunité* (traduit et annoté par LE BOEZ, Paris, 1928.
- WOODMANN. — *Zeit immunitat*, 1910 (4), 761. *Biochem. journ.*, 1921, 15, 187.
- ZINSSER. — *Infection and resistance*, 1923, p. 110. *J. Exp. Méd.*, 1923, 38, 163 ; 1925, 42, 311.
- ZUNZ. — *Ann. Soc. sc. Méd. et Nat.*, de Bruxelles, 1902.

TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS	9
DE LA COMPLEXITÉ DES PROTÉINES. PRINCIPALES MÉTHODES D'ÉTUDE	11
LA SPÉCIFICITÉ BIOLOGIQUE	17
La spécificité dans les réactions immunologiques	19
ANTIGÈNE	20
Les principaux caractères physico-chimiques des antigènes...	21
Quelle est la nature chimique de l'antigène	26
Rôle des lipoides comme antigènes	26
Antigène. — Récepteur. — Groupement spécifique	31
APPLICATION DE LA SPÉCIFICITÉ AUX PROTÉINES DU SANG ET DU LAIT	40
Choix des méthodes de séparations des protéines	46
La réaction de précipitation	52
Préparation des antisérums sur les lapins	53
OBSERVATIONS PERSONNELLES	55
Rôle des myxoprotéines et des électrolytes dans les phénomènes de précipitation	69
CONCLUSIONS	73
BIBLIOGRAPHIE	75

